

Journal of Biochemistry

Vol. 11 #2

Journal of Biochemistry
Vol. 11 #5

ÜBER DEN EINFLUSS DES ADRENALINS UND DER CHOLSÄURE AUF DIE KREATININAUSSCHIEDUNG.

VON

KOOZOO KAZIRO und AIJIRO TAKU.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Okayama.
Vorstand: Prof. Dr. T. Shimidzu.)

(Eingegangen am 6. Juli 1929.)

Das Kreatin entsteht bekanntlich beim Eiweissverbrauch in den Geweben der Wirbeltiere. Die Muskeln besitzen einen beträchtlichen Teil des Körpereiwiss und sind viel reicher an Kreatin als die anderen Organe. Also ist der gesamte Kreatinstoffwechsel von den Muskelgeweben abhängig. Das Kreatin, das durch die Nieren im Harn ausgeschieden wird, stammt zu einem beträchtlichen Teil vom Kreatin der Muskeln her, und die Menge des ausgeschiedenen Kreatinin geht mit dem Gehalt an Muskelkreatin parallel. Der Zusammenhang zwischen Muskelstoffwechsel und Kreatininausscheidung ist in der Tat unverkennbar. Indessen wurde nach van Hoogehuyze und Verplaegh (1905) der Verbrauch von Eiweiss bei gut Ernährten durch die Muskelarbeit nicht erhöht und dabei auch keine Erhöhung der Kreatininausscheidung durch die Nieren wahrgenommen. Dagegen ist nach Bürger (1910) der Anteil des Kreatininstickstoffs am gesamten Harnstickstoff grösser bei Menschen mit gutentwickelter als bei solchen mit geschädigter Muskulatur. Pekelharing und van Hoogenhuyze (1910) haben zum erstenmal nachgewiesen, dass in den willkürlichen Muskeln der Wirbeltiere beim Tonus der Gehalt an Kreatin zunimmt. Dass der Muskeltonus, wie jede andere Funktion des Muskels, von der Funktion des Nervensystems abhängig ist und ein inniger Zusammenhang zwischen den Funktionen des Nervensystems und dem Stoffwechsel des ruhenden Muskels besteht, wurde schon früher von Pflüger nachgewiesen.

Der Tonus der quergestreiften Muskulatur ist nach de Boer (1915) eine vom vegetativen (sympathischen) Nervensystem abhängige Funktion. Pekelharing (1911) hat auch nachgewiesen, dass der Gehalt des Muskelkreatins von den motorisch innervierten Zuckungen der Muskeln unabhängig ist und gesteigert wird, sobald der Tonus verstärkt wird. Ferner fand er, dass die Kreatinmenge des Muskels durch Tonussteigerung der willkürlichen Muskeln anstieg, und durch Tonuserabsetzung abnahm. Dagegen fand Riesser (1917), dass die Kreatinmenge im Muskel bei kuraresiertem Tier normal ist, während die Durchschneidung der Nervenstämmе des einen Hinterbeines bei kuraresiertem sowohl als auch bei nicht kuraresiertem Tier, infolge der Aufhebung des sympathischen Tonus, eine Verminderung der Kreatinmenge in der entsprechenden Muskulatur verursacht. Die sympathisch zentral erregenden Gifte wie Tetrahydro- β -Naphthylamin und Koffein erhöhen die Kreatinmenge des Muskels stark, obwohl jeder motorische Impuls durch Kurarevergiftung aufgehoben wird, insofern die sympathische Innervation intakt bleibt. Riesser hat auch die Wirkung des Adrenalins auf den Kreatingehalt des Muskels untersucht. Dieses sympathisch erregende Gift verursacht eine Kreatinvermehrung in den Muskeln. Aus diesen Daten hat Riesser den Schluss gezogen, dass der Muskeltonus zu dem Sympathicus-Nervensystem in äusserst innigem Zusammenhang steht.

Die doppelte (motorisch und sympathisch) efferente Innervation der quergestreiften Muskelfasern wurde schon früher von Boeke beobachtet. Der Tonus des willkürlichen Muskels wird nach den Untersuchungen von K. Kuré und seinen Mitarbeitern hauptsächlich durch doppelte (sympathische und motorische) Innervation hervorgerufen und bei der Ausschaltung des sympathischen Nerveneinflusses durch kompensatorische Steigerung des motorischen Tonus aufrecht erhalten. Sie haben auch in ihren späteren Mitteilungen die triple Innervation beim Tonus des willkürlichen Muskels (motorische, sympathische u. parasympathische) angenommen. Nach diesen Forschern hängt der Kreatinstoffwechsel

nur von dem sympathischen Tonus ab. Die Durchschneidung der sympathischen Nervenfasern verursacht die Abnahme des Kreatins im entsprechenden Muskel, die Zerstörung der motorischen Zentren in der Grosshirnrinde die Zunahme desselben. Die Steigerung des sympathisch innervierten Tonus im Organismus führt zu einer Vermehrung der Kreatininausscheidung im Harn, und die Herabsetzung des Tonus zur Verminderung des Harnkreatinins. Sie haben auch bei der Adrenalininjektion die Steigerung des Muskeltonus und der Kreatininausscheidung beobachtet. Der parasympathische Einfluss auf den Tonus wurde ebenfalls von K. Kuré und seinen Schülern wahrgenommen. Nach ihnen sind auch Steigerung und Herabsetzung des sympathischen Tonus von dem parasympathischen Einfluss abhängig, ebenso ist das Umgekehrte gültig. Wenn das Adrenalin dem Tier injiziert wird, so steigt der sympathische Tonus, was zur Vermehrung der Kreatininausscheidung führt. Wenn dem Tier Pilocarpin injiziert wird, so zeigt sich eine Steigerung des parasympathisch innervierten Muskeltonus. Dadurch wurde kompensatorisch eine Herabsetzung des sympathisch innervierten Muskeltonus, und eine Verminderung der Kreatininausscheidung im Harn herbeiführt. Atropin wirkt nach Araki(1925) auf den parasympathischen Muskeltonus herabsetzend, hat kompensatorisch die Erregung des sympathischen Muskeltonus zur Folge und führt zur vermehrten Kreatininausscheidung im Harn.

Akatsuka (1927) hat kürzlich auch festgestellt, dass das Muskelkreatin bei der Albino-Ratte sich durch Injektion von Adrenalin vermehrt. Er hat aus seinen Untersuchungen geschlossen, dass die Bildung des Kreatins aus seiner Muttersubstanz durch Adrenalin befördert wird.

Dass die Gallensäure beim Kohlenhydratstoffwechsel gegen Adrenalin antagonistisch wirkt, wurde in unserem Institut von verschiedenen Gesichtspunkten aus bewiesen (Misaki, Okamura u. a. 1928). Die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins wird nach Murakami (1928) durch die antagonistisch wirkende Gallensäure stark herabgedrückt.

Für das Wesen dieser Wirkung der Gallensäure gegen Adrenalin steht die Frage noch offen, ob das vegetative Nervensystem davon abhängig ist. Von einigen Forschern unseres Institutes wurde die Tatsache wahrgenommen, dass die Gallensäure die Sekretion des Adrenalins aus den Nebennieren hemmt. Die Gallensäure scheint also eine höchst wichtige Rolle im Organismus zu spielen.

Okamura, Teiji (1929) hat neulich gefunden, dass die Gallensäureausscheidung der Leber durch Injektion von Adrenalin stark vermindert wird. Einer von uns, Taku (1928), hat im letzten Jahre den Einfluss der verschiedenen Mittel, die das vegetative Nervensystem beeinflussen, auf die hopoglykämische Wirkung der Gallensäuren studiert. Es ist nun unzweifelhaft, dass die Wirkung der Gallensäuren überhaupt mit der Funktion des vegetativen Nervensystems äusserst eng verknüpft ist.

Wir werden in vorliegender Mitteilung die Wirkung des Adrenalins und der Gallensäure auf die Kreatininausscheidung, ferner das Zusammenwirken dieser beiden Substanzen untersuchen.

Sowohl die tägliche als auch die stündliche Kreatininausscheidung beim Kaninchen wurde durch Zufuhr von Cholsäure herabgesetzt. Dadurch wurde die Beobachtung Ikomas (1928) völlig übereinstimmend bestätigt. Die Injektion von Adrenalin führt, wie schon früher von Riesser und von Kuré und seinen Schülern untersucht worden ist, zur Vermehrung der Kreatininausscheidung im Harn. Ferner haben wir festgestellt, dass die Wirkung des Adrenalins und der Cholsäure durch gleichzeitige Zufuhr beider Substanzen, in den meisten Fällen nach ihrem Mengenverhältnisse zueinander ausgeglichen wird. Es tritt nämlich die Wirkung der überschüssig zugeführten Substanz, entweder die des Adrenalins oder die der Cholsäure, vorherrschend auf.

Experimenteller Teil.

Als Versuchstiere benutzten wir durchaus männliche, gut

genährte Kaninchen von ca. 2 kg Körpergewicht.

Die Kreatininmenge des Harns wurde nach der Folin'schen Methode bestimmt.

1) TÄGLICHE KREATININAUSSCHIEDUNG.

Die zum Versuche benutzten Kaninchen wurden täglich mit

TABELLE I.

Versuch 1.

Datum	Körpergewicht	Harnmenge	Spec. Gewicht	Reaktion	Kreatinin		Bemerkung
					mg	mg%	
1/III.	2490	115	1020	neutral	84,38	73,37	4/III. 2,0 cem Na-Cholatlösung (1%), subkutan.
2	2485	120	1020	„	81,66	68,05	
3	2490	115	1020	„	79,10	68,78	
4	2490	110	1018	sauer	63,82	58,02	
5	2500	110	1022	neutral	66,90	60,82	
6	2520	110	1025	„	70,76	64,33	

Versuch 2.

14/III.	2060	135	1018	neutral	54,28	40,21	17/III. 1,0 cem Na-Cholatlösung 19/III. 1,0 cem Na-Cholatlösung
15	2065	125	1020	„	54,04	43,26	
16	2070	125	1020	„	55,08	44,06	
17	2070	125	1020	sauer	49,76	39,80	
18	2070	130	1020	alkal.	42,40	32,62	
19	2080	130	1019	neutral	36,16	27,82	
20	2090	120	1022	alkal.	56,26	46,88	

Versuch 3.

27/III.	2120	125	1020	neutral	46,02	36,82	30/III. 3,0 cem Na-Cholat
28	2120	125	1021	„	46,24	36,99	
29	2125	115	1024	„	46,74	40,64	
30	2120	130	1020	„	42,06	32,35	
31	2120	130	1020	„	41,80	32,15	
1/IV.	2120	115	1020	„	39,98	34,77	
2	2120	115	1020	„	46,02	40,02	

50 g getrockneter Okara, 50 g grünem Gemüse und 100 ccm Wasser gefüttert. Nachdem das Körpergewicht und die tägliche Kreatininmenge im Harn ziemlich konstant geworden war, wurden dem Tier bestimmte Mengen von Cholatlösung und Adrenalinlösung subkutan injiziert und zwar entweder einzeln oder beide zusammen, und es wurde die Beeinflussung der Kreatininausscheidung beobachtet.

TABELLE II.

Versuch 1.							
Datum	Körpergewicht	Harnmenge	Spec. Gewicht	Reaktion d. Harns	Kreatinin		Bemerkung
					mg	mg%	
16/IV.	2265	135	1018	alkal.	80,42	59,57	20/IV. 0,3 ccm 1%iger Adrenalinlösung, subkutan.
17	2260	150	1016	„	87,40	58,26	
18	2260	150	1016	neutral	86,80	57,86	
19	2270	155	1016	„	89,78	57,92	
20	2275	150	1019	„	90,70	60,46	
21	2275	150	1020	„	85,96	57,31	
22	2290	150	1020	„	85,56	57,04	
23	2285	160	1018	„	85,56	53,48	
Versuch 2.							
22/IV.	2120	120	1020	neutral	44,24	36,87	25/IV. 0,6 ccm 1%iger Adrenalinlösung, subkutan.
23	2110	120	1020	„	45,34	37,78	
24	2100	120	1020	„	49,78	41,48	
25	2110	115	1020	„	57,32	49,84	
26	2120	120	1024	„	57,32	47,77	
27	2120	120	1022	„	46,16	38,47	
Versuch 3.							
26/IV.	2305	140	1018	neutral	85,16	60,82	28/IV. 0,8 ccm 1%iger Adrenalinlösung, subkutan.
27	2315	120	1020	„	84,40	70,33	
28	2300	105	1022	„	90,68	86,36	
29	2330	120	1020	„	84,38	70,32	
30	2335	140	1020	„	83,80	59,86	

a) *Versuch mit Cholsäure.*

Aus den Versuchen 1, 2 u. 3 der Tabelle I sieht man, dass das Kreatinin im Harn bei Zufuhr von Cholsäure sowohl prozentual als auch der absoluten Menge nach herabgesetzt ausgeschieden wird.

b) *Versuch mit Adrenalin.*

Auf Grund der Versuche von Tabelle II kann man wohl annehmen, dass die tägliche Kreatininausscheidung im Harn bei Zufuhr von Adrenalin sowohl prozentual als auch der gesamten Menge nach ziemlich gesteigert wird.

2) STÜNDLICHE KREATININAUSSCHIEDUNG.

Vor dem Versuche wurde der Harn möglichst vollkommen auskatheterisiert und die Harnblase mit Wasser gut ausgewaschen. Danach wurden dem Kaninchen 50 ccm Wasser mittels Schlundsonde eingeführt.

Der Harn wurde je 2 Stunden mittels Katheterisation gesammelt und die Harnblase mit einer bestimmten Menge Wasser möglichst gut ausgewaschen. Der auskatheterisierte Harn samt dem Waschwasser wurde auf ein bestimmtes Volumen mit Wasser aufgemüllt und das darin enthaltene Kreatinin kolorimetrisch bestimmt. Die Resultate sind in folgenden Tabellen zusammengestellt.

a) *Der Kontrollversuch.*

Als Kontrolle haben wir die normale Kreatininausscheidung je 2 Stunden beobachtet.

Die Versuche 1, 2 u. 3 der Tabelle III zeigen, dass die in je 2 Stunden ausgeschiedene Kreatininmenge bei demselben Tiere ziemlich konstant, aber individuell sehr verschieden ist.

b) *Versuch mit Cholsäure.*

Durch Zufuhr von Cholsäure wurde die stündliche Kreatinin-

TABELLE III.

Versuch 1. (1/V) Körpergewicht 2189 g			
Zeitabschnitt	Reaktion d. Harns	Kreatinin mg	Bemerkung
8-10 a.m.	neutral	6,326	
10-12 „	sauer	6,680	
12- 2 p.m.	„	7,183	
2- 4 „	„	7,193	
4- 6 „	„	6,579	
Versuch 2. (2/V) Körpergewicht 1980 g			
7,30- 9,30 a.m.	neutral	8,000	
9,30-11,30 „	„	8,050	
11,30- 1,30 p.m.	sauer	7,904	
1,30- 3,30 „	„	8,255	
3,30- 5,30 „	„	8,100	
Versuch 3. (7/V) Körpergewicht 2175 g			
8- 9 a.m.	neutral	3,961	In diesem Fall wurde der Harn je 1 Stunde lang untersucht.
9-10 „	„	4,244	
10-11 „	„	4,082	
11-12 „	„	3,961	
12- 1 p.m.	„	4,570	

ausscheidung, wie man in den Versuchen 1, 2, 3 u. 4 der Tabelle IV erkennen kann, bedeutend herabgesetzt. In dem Harn, der in den ersten 2 Stunden nach der Injektion ausgeschieden worden war, wurde am wenigsten Kreatinin gefunden. Diese verminderte Ausscheidung der Kreatinins hielt in den meisten Fällen etwa 6-8 Stunden nach der Injektion der Cholsäure an.

TABELLE IV.

Versuch 1. (4/V) Körpergewicht 2280 g			
Zeitabschnitt	Reaktion d. Harns	Kreatinin mg	Bemerkung
7,10– 9,10 a.m.	neutral	7,193	2,0 cem 1%ige Na-Cholatlösung, subkutan. 9,20 a.m.
9,10–11,10 „	„	6,524	
11,10– 1,10 p.m.	„	6,993	
1,10– 3,10 „	„	6,817	
3,10– 5,10 „	„	7,570	
Versuch 2. (8/V) Körpergewicht 2190 g			
7,15– 9,15 a.m.	neutral	9,000	5,0 cem 1%ige Na-Cholatlösung, subkutan. 9,20 a.m.
9,15–11,15 „	„	7,745	
11,15– 1,15 p.m.	„	8,344	
1,15– 3,15 „	sauer	8,597	
3,15– 5,15 „	„	8,452	
Versuch 3. (9/V) Körpergewicht 2390 g			
7,15– 9,15 a.m.	neutral	10,368	5,0 cem 1%ige Na-Cholatlösung, subkutan. 9,20 a.m.
9,15–11,15 „	„	9,720	
11,15– 1,15 p.m.	sauer	8,797	
1,15– 3,15 „	„	9,529	
Versuch 4. (10/V) Körpergewicht 2220 g			
7,15– 9,15 a.m.	neutral	8,169	5,0 cem 1%ige Na-Cholatlösung, subkutan. 9,20 a.m.
9,15–11,15 „	„	2,678	
11,15– 1,15 p.m.	„	2,775	
1,15– 3,15 „	sauer	5,143	
3,15– 5,15 „	„	6,353	

c) Versuch mit Adrenalin.

TABELLE V.

Versuch 1. (8/V)		Körpergewicht 2500 g	
Zeitabschnitt	Reaktion d. Harns	Kreatinin mg	Bemerkung
7,25- 9,25 a.m.	neutral	9,257	0,5 ccm 1%iger Adrenalinlösung, subkutan. 9,30 a.m.
9,25-11,25 "	"	12,050	
11,25- 1,25 p.m.	"	10,565	
1,25- 3,25 "	"	11,046	
3,25- 5,25 "	sauer	10,800	
Versuch 2. (9/V)		Körpergewicht 2760 g	
7,25- 9,25 a.m.	neutral	8,100	0,5 ccm 1%iger Adrenalinlösung, subkutan. 9,30 a.m.
9,25-11,25 "	"	11,173	
11,25- 1,25 p.m.	"	10,643	
1,25- 3,25 "	"	9,257	
Versuch 3. (10/V)		Körpergewicht 2180 g	
7,25- 9,25 a.m.	neutral	7,752	0,5 ccm 1%iger Adrenalinlösung, subkutan. 9,30 a.m.
9,25-11,25 "	"	8,617	
11,25- 1,25 p.m.	neutral	8,182	
1,25- 3,25 "	"	7,168	
3,25- 5,25 "	"	7,642	
Versuch 4. (11/V)		Körpergewicht 1950 g	
6,45- 8,45 a.m.	sauer	7,642	0,5 ccm 1%iger Adrenalinlösung, subkutan. 8,50 a.m.
8,45-10,45 "	"	9,969	
10,45- 0,45 p.m.	"	9,819	
0,45- 2,45 "	"	8,574	
2,45- 4,45 "	"	8,526	
Versuch 5. (17/V)		Körpergewicht 2120 g	
7,10- 9,10 a.m.	sauer	8,804	0,5 ccm 1%iger Adrenalinlösung, subkutan. 9,15 a.m.
9,10-11,10 "	"	10,452	
11,10- 1,10 "	"	10,000	
1,10- 3,10 "	"	10,000	
3,10- 5,10 "	"	9,643	
Versuch 6. (18/V)		Körpergewicht 1960 g	
7,20- 9,20 a.m.	sauer	7,642	0,5 ccm 1%iger Adrenalinlösung, subkutan. 9,30 a.m.
9,20-11,20 "	"	8,884	
11,20- 1,20 p.m.	"	8,901	
1,20- 3,20 "	"	8,709	
3,20- 5,20 "	"	8,436	

Die Beeinflussbarkeit der Kreatininausscheidung durch Cholsäure scheint individuell recht verschieden zu sein.

Aus den Versuchen 1–6 der Tabelle V ist ersichtlich, dass die in je 2 Stunden ausgeschiedene Kreatininmenge sich durch Zufuhr von Adrenalin bedeutend vermehrt. Die in den ersten 2 Stunden nach der Adrenalininjektion ausgeschiedene Kreatininmenge im Harn wurde als die grösste gefunden.

In den meisten Fällen dauerte diese vermehrte Ausscheidung von Kreatinin bei Adrenalinzufuhr 4–8 Stunden nach der ersten Injektion an.

Die Beeinflussbarkeit der Kreatininausscheidung durch Adrenalin scheint individuell recht verschieden zu sein, wie es auch beim Versuch mit Cholsäure der Fall war.

d) Versuch mit Cholsäure und Adrenalin.

Aus den Versuchen 1–5 der Tabelle VI sieht, man, dass bei gleichzeitiger Zufuhr von 0,5 ccm einer 1%igen Adrenalinlösung und 5,0 ccm einer 1%igen Cholatlösung, die Kreatininausscheidung in 2 Fällen vermindert, in 3 Fällen unverändert gefunden wurde. Die Versuche 5–10 zeigen, dass bei Zufuhr von 0,5 ccm einer 1%igen Adrenalinlösung und 3,0 ccm einer 1%igen Cholatlösung das Kreatinin im Harn in 4 Fällen sich vermehrte und nur in einem Fall unverändert blieb.

Nach diesem Ergebnis scheint uns die Vermehrung des Kreatinins im Harn darauf zu beruhen, dass die Wirkung des Adrenalins in den Vordergrund tritt, und die verminderte Kreatininausscheidung dadurch bedingt zu sein, dass die Cholsäure vorherrschend wirkt. Unveränderte Kreatininausscheidung ist der ausgleichenden Wirkung von Cholsäure und Adrenalin bei individueller Verschiedenheit zuzuschreiben.

TABELLE VI.

Versuch 1. (11/V) Körpergewicht 2165 g			
Zeitabschnitt	Reaktion d. Harns	Kreatinin mg	Bemerkung
7- 9 a.m.	neutral	8,565	
9-11 „	„	6,454	9,05 a.m.
11- 1 p.m.	sauer	6,263	0,5 ccm Adrenalinlösung u.
1- 3 „	„	6,136	5,0 ccm Na-Cholatlösung,
3- 5 „	„	7,064	subkutan.
Versuch 2. (11/V) Körpergewicht 2035 g			
7,10- 9,10 a.m.	neutral	7,500	
9,10-11,10 „	sauer	6,199	9,15 a.m.
11,10- 1,10 p.m.	„	6,395	0,5 ccm Adrenalinlösung u.
1,10- 3,10 „	„	6,713	5,0 ccm Na-Cholatlösung,
3,10- 5,10 „	„	6,480	subkutan.
Versuch 3. (13/V) Körpergewicht 2005 g			
6,45- 8,45 a.m.	sauer	6,353	
8,45-10,45 „	„	6,480	8,50 a.m.
10,45- 0,45 p.m.	„	6,480	0,5 ccm Adrenalinlösung u.
0,45- 2,45 „	„	6,545	5,0 ccm Na-Cholatlösung,
2,45- 4,45 „	„	6,480	subkutan.
Versuch 4. (20/V) Körpergewicht 2620 g			
7,30- 9,30 a.m.	sauer	6,231	
9,30-11,30 „	„	6,182	7,40 a.m.
11,30- 1,30 p.m.	„	6,291	0,5 ccm Adrenalinlösung u.
1,30- 3,30 „	„	6,680	5,0 ccm Na-Cholatlösung,
3,30- 5,30 „	„	6,822	subkutan.
Versuch 5. (20/V) Körpergewicht 2035 g			
7,40- 9,40 a.m.	sauer	8,100	
9,40-11,40 „	„	7,623	7,50 a.m.
11,40- 1,40 p.m.	„	8,100	0,5 ccm Adrenalinlösung u.
1,40- 3,40 „	„	8,203	5,0 ccm Na-Cholatlösung,
3,40- 5,40 „	„	8,000	subkutan.

Versuch 6. (13/V) Körpergewicht 2180 g			
7- 9 a.m.	sauer	6,171	9,05 a.m. 0,5 cem Adrenalinlösung u. 3,0 cem Na-Cholatlösung, subkutan.
9-11 „	„	6,171	
11- 1 p.m.	„	6,231	
1- 3 „	„	8,307	
3- 5 „	„	6,171	
Versuch 7. (15/V) Körpergewicht 2100 g			
7- 9 a.m.	sauer	5,634	9,10 a.m. 0,5 cem Adrenalinlösung u. 3,0 cem Na-Cholatlösung, subkutan.
9-11 „	„	5,634	
11- 1 p.m.	„	6,659	
1- 3 „	„	7,363	
3- 5 „	„	7,624	
Versuch 8. (15/V) Körpergewicht 2020 g			
7,10- 9,10 a.m.	sauer	5,786	9,20 a.m. 0,5 cem Adrenalinlösung u. 3,0 cem Na-Cholatlösung, subkutan.
9,10-11,10 „	„	6,142	
11,10- 1,10 p.m.	„	7,200	
1,10- 3,10 „	„	8,000	
3,10- 5,10 „	„	6,231	
Versuch 9. (16/V) Körpergewicht 2200 g			
6,30- 8,30 a.m.	neutral	6,765	8,35 a.m. 0,5 cem Adrenalinlösung u. 3,0 cem Na-Cholatlösung, subkutan.
8,30-10,30 „	„	7,200	
10,30- 0,30 p.m.	sauer	7,406	
0,30- 2,30 „	„	6,353	
2,30- 4,30 „	„	7,200	
Versuch 10. (16/V) Körpergewicht 2340 g			
6,45- 8,45 a.m.	neutral	4,578	8,50 a.m. 0,5 cem Adrenalinlösung u. 3,0 cem Na-Cholatlösung, subkutan.
8,45-10,45 „	„	5,891	
10,45- 0,45 „	sauer	7,122	
0,45- 2,45 „	„	10,047	
2,45- 4,45 „	„	8,415	

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Sowohl die tägliche als auch die stündliche Kreatininausscheidung beim Kaninchen wird durch Zufuhr von Cholsäure herabgesetzt, durch die von Adrenalin gesteigert. Damit sind die Beobachtungen von Ikoma, Riesser und von Kuré völlig bestätigt.

2. Die stündliche Kreatininausscheidung bei demselben normalen Kaninchen ist ziemlich konstant, aber individuell sehr verschieden. Die normalen Schwankungen der stündlichen Kreatininausscheidung liegen meistens zwischen 0.1—0.3 mg pro 2 Stunden.

3. Die Wirkung des Adrenalins und die der Cholsäure gleicht sich bei gleichzeitiger Zufuhr beider Substanzen, je nach ihrem Mengenverhältnisse zueinander aus. Dadurch ist bewiesen, dass ein Antagonismus zwischen den beiden Wirkungen vorliegt.

4. Ort und Stelle der Wirkung der Cholsäure gegen Adrenalin wurde in unseren Versuchen nicht berücksichtigt. Zweifellos ist die Wirkung der Cholsäure mit dem vegetativen Nervensystem sehr eng verknüpft.

LITERATUR.

- Akatsuka, H. (1928): Journ. of Biochem., 8, 57.
Araki, S. (1925): Tokio Igakkai-Zassi, 39, 916.
de Boer, S. (1915): Zeitschr. f. Biol., 65, 239.
Bürger, M. (1910): Zeitschr. f. ges. exper. Med., 9, 262.
Van Hoogenhuyze, C. J. C. u. Verploegh, H. (1905): Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 415.
Hoshino, N. (1925): Tokio Igakkai-Zassi, 39, 671.
Ikoma, S. (1928): Okayama Igakkai-Zassi, Nr. 460, 890.
Kuré, K.; Shinosaki, T.; Kishimoto, M.; Sato, M.; Hoshino, N. u. Tsukiji, Y. (1921): Tokio Igakkai-Zassi, 35, 1029.
Kuré, K.; Mayeda, M. u. Toyama, K. (1921): Tokio Igakkai-Zassi, 35, 693.
Kuré, K. (1923): Shinkeigaku-Zassi, 23, 367.
Misaki, K. (1928): Journ. of Biochem., 8, 235.
Murakami, K. (1928): ebenda S. 261.

Okamura, T. (1923): ebenda S. 271 u. 445.

Okamura, T. (1929): Arbeiten aus d. Med. Univ. zu Okayama, **1** Heft 3.

Pekelharing, C. A. (1911): Zeitschr. f. physiol. Chem., **75**, 207.

Pekelharing, C. A. und van Hoogenhuyze, C. J. C. (1910):
Zeitschr. f. physiol. Chem., **64**, 262.

Riesser, O. (1917): Archiv f. d. exper. Pathol. u. Pharm., **80**, 183.

Taku, A. (1928): Journ. of. Biochem., **9**, 299.

ÜBER DIE VERBREITUNG DES GLYKOGENS IM RINDERHERZEN.

VON

TSUNEO MATSUMORI.

(Aus dem physiologischen Institut der medizinischen Fakultät
zu Nagasaki. Vorstand: Prof. Dr. D. Ogata.)

(Eingegangen am 7. Juli 1929.)

EINLEITUNG.

Das embryonale Hühnerherz weist nach Gondo bis zum 4. Bebrütungstage in sämtlichen Teilen gleichmässige Automatie auf. Diese Automatie wird aber mit dem Fortschritt der Bebrütung allmählich lokalisiert, sodass sie gegen Ende der Bebrütung am stärksten im Vorhof, weniger stark an der Herzspitze, und am schwächsten in der Herzkammer ist. Die Verbreitung des Glykogens entspricht nach demselben Autor vollkommen dem Verhalten der Automatie. Am Ende der Bebrütung ist die Verteilung des Glykogens hinsichtlich seiner Stärke folgendermassen: Vorhof oder Reizleitungssystem, Herzspitze, Kammer. Bisher ist das Glykogen immer histologisch mit chemischen Färbemethoden (Karminfärbung nach Best u.a.) untersucht worden. Diese Methode ist aber keineswegs befriedigend und sollte durch rein chemische Bestimmung ersetzt werden. Der Verfasser versuchte diese Lücke auszufüllen. Während seine Arbeit im Gange war, erschien 1928 die Arbeit von Buadze und Wertheimer in Pflügers Archiv, welche von dem Vergleich des Glykogengehaltes im Herzmuskel und Reizleitungssystem handelt. Die Ergebnisse der gegenwärtigen Versuche sind der Veröffentlichung wert, weil sie einerseits nicht mit denjenigen der obigen Autoren übereinstimmen, und andererseits weil sie sich nicht auf den Vergleich zwischen Herzmuskel und Reizleitungssystem beschränken.

MATERIAL, METHODIK UND VERSUCHSERGEBNISSE.

Als Material wurde das Rinderherz benutzt. Es wurde möglichst schnell nach der Tötung vom Schlachthaus zum Institut gebracht. Buadze und Wertheimer bemerkten schnelles Verschwinden des Glykogens im Muskel. Wenn man sich aber mit dem Vergleich des Glykogengehaltes begnügt, so kann der eben erwähnte Vorgang bis zu einem gewissen Grade vernachlässigt werden, weil das Verschwinden des Glykogens sowohl im Herzmuskel als auch im Reizleitungssystem vor sich zu gehen scheint. Je 40–50 g sogar bis 100 g wiegende Stücke aus verschiedenen Herzteilen sind bei den Versuchen (mit Pflügers Methode) zur Untersuchung verwandt worden.

Die eigentliche Bestimmung des Glykogens geschah durch Pflügers resp. Takahatas Methode.

Die mit Pflügers Methode erzielten Resultate sind in Tabelle I zusammengefasst.

TABELLE I.
Der Glykogengehalt des Rinderherzens.

Nr. des Herzens	r. Vorhof	l. Vorhof	r. Kammer	l. Kammer	
	%	%	%	%	
1	0,34960	0,42922	0,06180	0,00927	1 Stunde nach Tod.
2	0,10530	0,08973	0,05792	0,04573	1 „ „ „
3	0,29967	0,31762	0,15832	0,15826	1 „ „ „
4	0,31723	0,56781	0,22327	0,08343	1 „ „ „
5	0,19976	0,08774	0,06749	0,05977	1½ „ „ „
6	0,25855	0,20579	0,06873	0,04909	1½ „ „ „
7	0,15228	0,13672	0,05473	0,05464	1½ „ „ „
8	0,08690	0,05140	0,03926	0,03874	2½ „ „ „
9	0,12324	0,08066	0,02165	0,02207	1½ „ „ „
10	0,12593	0,13631	0,03724	0,03641	1¾ „ „ „
11	0,56935	0,54316	0,13455	0,23174	1¾ „ „ „
12	0,57043	0,56095	0,18788	0,12310	1½ „ „ „

Der Glykogengehalt des Vorhofs übertrifft stets den der Kammer.

Betreffs der Mikrobestimmung des Glykogens nach Takahata sei hier nur der Haupthergang dargestellt. Der Gewebsbrei wird mit 1 cem 30%iger Kalilauge 4 Stunden im Wasserbad erhitzt, die Lösung mit Salzsäure weitere 40 Minuten gekocht. Dann lässt man die Flüssigkeit abkühlen, neutralisiert, enteieisst mit Wolframat und Schwefelsäure, und filtriert. Das Filtrat wird mit konzentrierter Natronlauge versetzt, und teils direkt, teils nach 30 Minuten langem Erhitzen, wodurch der Zucker zerstört wird, die Reduktionskraft nach dem Bangschen Mikroverfahren bestimmt. Aus der Differenz zwischen den beiden gefundenen Werten ergibt sich die vom Glykogen abstammende Zuckermenge. Durch Multiplikation des erhaltenen Zuckerwertes mit 0,927 erhält man die zugehörige Menge Glykogen. Aus dem Reizleitungssystem wurde

TABELLE II.
Der Glykogenegehalt des Rinderherzens.

Nr. des Herzens	Reizleitungssystem	1. Vorhof	1. Kammer	
	%	%	%	
1	0,04479	0,18215	0,07656	2 Stunden nach Tod.
2	0,18874	0,27747	0,13569	„ „ „
3	0,48619	0,40530	0,11799	„ „ „
4	0,50357	0,40221	0,42979	„ „ „
5	0,36577	0,20386	0,16522	„ „ „
6	0,38868	0,25830	0,17396	„ „ „
7	0,43428	0,21490	0,34296	„ „ „
8	0,40181	0,28694	0,19755	„ „ „
9	0,24766	0,10840	0,20931	„ „ „
10	0,61321	0,33254	0,26418	„ „ „
11	0,32273	0,08635	0,04544	„ „ „
12	0,18223	0,19479	0,16852	„ „ „
13	0,49050	0,20932	0,13417	„ „ „
14	0,28409	0,15390	0,29260	„ „ „
15	0,36341	0,44975	0,20844	„ „ „
16	0,17256	0,14522	0,16757	„ „ „
17	0,51707	0,26775	0,19259	„ „ „

je 0,173–0,418 g und aus dem Vorhof und der Kammer je 0,2–0,4 g zu dieser Bestimmung verwandt.

Die Resultate sind in Tabelle II zu sehen.

Wenn man die Resultate in eine Reihenfolge bringt, in der der Glykogengehalt nach rechts abnimmt, so bekommt man die folgende Ordnung:

	I	II	III
Reiz-Syst.	12	4	1
Vorhof	4	8	5
Kammer	1	5	11

Es ist ohne weiteres ersichtlich, dass das Reizleitungssystem an erster Stelle steht, der Vorhof an zweiter, und die Kammer an letzter.

Es bleibt noch offen, was den Unterschied zwischen den Befunden der oben genannten Autoren und den meinigen verursacht. Die Temperatur, die Zeitfrist von der Abtötung bis zur Bestimmung, die Herzabschnitte, denen die Stücke entnommen werden, die Bestimmungsmethodik und -technik u.a. können daran beteiligt sein. Gondo bemerkte, wie eingangs erwähnt, im embryonalen Hühnerherz einen Parallelismus zwischen der Stärke der Herzautomatie und dem Glykogengehalt. Auf Grund dieser Beobachtung liegt es nahe anzunehmen, dass das Reizleitungssystem, welches lebenslang die Selbsttätigkeit beibehält, reicher an Glykogen ist. Auch steht dieser Befund mit dem chemischen Farbnachweis, der den Reichtum des Glykogens im Reizleitungssystem bestätigt, in Übereinstimmung.

Als die vorliegende Untersuchung beinahe zum Abschlusse gekommen war, erschien Yamazaki's Arbeit (Yamazaki, 1929) über ein ähnliches Problem in dieser Zeitschrift. Ausser dem Vergleich zwischen dem Glykogengehalt in Vorhof und Kammer, der in seiner Arbeit fehlt, sind unsere Resultate im wesentlichen keineswegs von einander abweichend.

LITERATUR.

- Buadze, S. und E. Wertheimer (1928): Pflügers Archiv., **219**, 233.
Gondo, K. (1928): Igaku Kenkyu, **2**, 1.
Takahata, T. und J. Kume (1926): Fukuoka Ika Daigaku Zasshi, **19**,
169.
Pflüger, E. (1904): Pflügers Archiv., **103**, 169.
Yamazaki, K. (1929): The Journ. of Biochem., **10**, 481.

STUDIES IN EXPERIMENTAL SCURVY.

Y. The Lipoid Metabolism of the Guinea Pigs fed on a Vitamin C Free Diet.

By

TAKEYOSHI NAGAYAMA and TATSUMI TAGAYA.*

*(From the Laboratory of Biological Chemistry of the Tokyo Jikei-kwai
Medical College, Tokyo.)*

(Received for publication, July —, 1929.)

The most interesting problem among the recent reports upon the relation between lack of vitamin C and the lipoid metabolism of the animal, is of the lipoid in blood and organ tissues, particularly in the suprarenal capsule. J. A. Collazo and G. Bosch (1928) determined the blood lipoids in experimental scurvy; according to them, in the course of avitaminosis, the amounts of blood fat increase, and though they finally come to decrease, hardly get to the normal value. Especially, when the large amounts of fat are given orally, the state of hyperlipemia is maintained for a number of hours, and the amount of cholesterol in the blood is also kept parallel to that of fat. But although the amount of phospholipin does not change at the beginning, towards the end, it shows a tendency to decrease. On the other hand, N. A. Ssokolow (1925), reported that the amounts of cholesterol in the blood of guinea pigs in scurvy, decrease in proportion to the severity of the disease; that at the time near recovery, the amount returns gradually to the original amount until it resumes entirely the normal value; that the decrease of cholesterol in blood is merely a symptom of scurvy, but not the actual cause of it. There are also some who hold an intermediate opinion that both in acute and chronic avitaminosis C, the influence upon the amounts of cholesterol in the blood is not recognized. (Mauriquand, Leulier, Michel

* Read at the third congress of the Nippon Biochemical Society (1927).

et Idrac, 1925). In organ tissues, especially in suprarenal glands, it seems to us that there is a great disturbance of the cholesterol metabolism in scurvy. (G. Mauriquand et A. Leulier, 1925). According to the reports of L. Randoin et Michanx (1926), the amounts of cholesterol in suprarenal capsule of the scorbutic guinea pigs, as compared with those of the normal ones, decrease. Although fatty acid decreases at first, it soon shows a gradual increase towards the normal condition until it rather surpasses the original amounts. In this case the lipemic coefficient becomes small.

In our experiment, we attempted to study the lipid metabolism of vitamin C free guinea pigs; for this purpose we determined the total lipoids, fatty acid, and unsaponifiable substance in the respective organs, and compared the amounts with those of normal ones.

I. EXPERIMENTAL METHODS.

Guinea pigs, weighing from 300 to 500 gm. were used. Vitamin C free basal diet and animal cages are the same as those reported in the previous paper (1928). We determined the total lipoids, fatty acid, and unsaponifiable substances by Kumagawa-Suto's method. The organ tissues used for our investigation, were liver, muscle, spleen, lungs, kidneys, suprarenal capsules, heart, testicle, and intestines.

II. EXPERIMENTAL RESULTS.

The experimental results after slaughter of four normal guinea pigs few from 19 to 24 days long on the basal diet with a supply of fresh radish, are as shown in Tables I, II, III and IV.

The results of the same experiment performed upon six guinea pigs fed merely on vitamin C free basal diet, are as in tables V-X.

For convenience in observing the above results at a glance, we put them together in tables, XIa, XIb, XIIa and XIIb.

A. The case of the control animal.

a. The percentage of fatty acid content in organ tissues.

TABLE I.

Control. After feeding on Scherman's vitamin C free diet and fresh radish for 18 days, killed. Water was given ad libitum.

No. 21.

Body weight 395-235 g

Organ	Weight of tissue	Petroleum ether extract		Fatty acid		Unsaponifiable substance	
		g	%	g	%	g	%
Liver	18.7673	0.3708	1.98	0.3270	1.75	0.0438	0.233
Muscle	9.0541	—	—	—	—	—	—
Spleen	0.3860	0.0098	2.54	0.0058	1.51	0.0040	1.04
Lung	2.1288	0.0526	2.47	0.0446	2.09	0.0080	0.376
Kidney	3.1353	0.0767	2.44	0.0643	2.05	0.0124	0.395
Suprarenal	0.3728	0.0471	12.60	0.0257	6.86	0.0214	5.740
Heart	1.1173	0.0215	1.92	0.0187	1.67	0.0028	0.252
Testicle	0.9274	0.0288	3.10	0.0206	2.22	0.0082	0.884
Intestine	27.3828	0.3808	1.39	0.3132	1.15	0.0676	0.246

TABLE II.

Control. Fed on basal diet and vitamin C. After 23 days, killed.

No. 22.

Body weight 370.352 g

Organ	Weight of tissue	Petroleum ether extract		Fatty acid		Unsaponifiable substance	
		g	%	g	%	g	%
Liver	13.8996	0.3950	2.84	0.3439	2.47	0.0511	0.368
Muscle	10.6213	—	—	—	—	—	—
Spleen	0.3529	0.0106	3.00	0.0067	1.90	0.0039	1.100
Lung	2.4489	0.0513	2.09	0.0361	1.47	0.0152	0.620
Kidney	2.5623	0.0774	3.02	0.0676	2.64	0.0098	0.382
Suprarenal	0.2438	0.0437	17.90	0.0238	9.75	0.0199	8.150
Heart	1.0611	0.0310	2.92	0.0277	2.61	0.0033	0.312
Testicle	1.8177	0.0486	2.68	0.0444	2.45	0.0042	0.231
Intestine	23.6276	0.3861	1.64	0.3114	1.32	0.0747	0.316

TABLE III.

Control. Fed on basal diet and vitamin C for 22 days. Then killed

No. 23.

Body weight 370-366 g

Organ	Weight of tissue	Petroleum ether extract		Fatty acid		Unsaponifiable substance	
		g	%	g	%	g	%
Liver	15.4126	0.4348	2.82	0.3886	2.52	0.0462	0.300
Muscle	12.7297	0.1780	1.40	0.1521	1.20	0.0259	0.204
Spleen	0.4610	0.0128	2.78	0.0095	2.07	0.0033	0.715
Lung	2.9272	0.0749	2.56	0.0573	1.96	0.0176	0.600
Kidney	2.9037	0.0864	2.98	0.0694	2.40	0.0170	0.585
Suprarenal	0.1783	0.0212	11.90	0.0124	6.95	0.0083	4.950
Heart	1.1422	0.0296	2.59	0.0228	1.99	0.0068	0.596
Testicle	1.8800	0.0598	3.18	0.0490	2.53	0.0108	0.648
Intestine	31.5975	0.4394	1.39	0.3745	1.19	0.0649	0.205

TABLE IV.

Control. After feeding for 24 days on basal diet and vitamin C.
Then slaughtered.

No. 24.

Body weight 375-383 g

Organ	Weight of tissue	Petroleum ether extract		Fatty acid		Unsaponifiable substance	
		g	%	g	%	g	%
Liver	14.9036	0.3978	2.67	0.3532	2.37	0.0446	0.300
Muscle	14.0569	0.2136	1.52	0.1932	1.38	0.0204	0.145
Spleen	0.3996	0.0086	2.15	0.0058	1.45	0.0028	0.700
Lung	2.5737	0.0921	3.34	0.0760	2.72	0.0161	0.625
Kidney	2.8821	0.0898	3.12	0.0707	2.46	0.0191	0.663
Suprarenal	0.2815	0.0566	20.10	0.0258	9.20	0.0308	10.900
Heart	1.1220	0.0211	1.88	0.0166	1.48	0.0045	0.402
Testicle	2.2652	0.1070	4.72	0.0656	2.89	0.0414	1.830
Intestine	22.8004	0.3956	1.74	0.3276	1.44	0.0680	0.298

TABLE V.

Scorbutic animal fed on Sherman's vitamin C free diet and water. Lived for 16 days, and developed remarkable scorbutic changes.

No. 8.

Body weight 445-305 g

Organ	Weight of tissue	Petroleum ether extract		Fatty acid		Unsaponifiable substance	
		g	%	g	%	g	%
Liver	10.7502	0.2662	2.47	0.2302	2.14	0.0360	0.334
Muscle	9.5694	0.0793	0.83	0.0656	0.687	0.0137	0.143
Spleen	0.3768	0.0118	3.12	0.0080	2.12	0.0038	1.010
Lung	2.5708	0.0493	1.92	0.0323	1.26	0.0170	0.660
Kidney	3.4710	0.0674	1.94	0.0530	1.53	0.0144	0.415
Suprarenal	0.5409	0.0530	9.80	0.0384	7.11	0.0146	2.690
Heart	1.0683	0.0164	1.53	0.0142	1.32	0.0022	0.206
Testicle	2.3969	0.0432	1.81	0.0376	1.58	0.0056	0.234
Intestine	20.9719	0.2336	1.12	0.1732	0.832	0.0604	0.288

TABLE VI.

Scorbutic animal. Lived for 12 days. Scorbutic signs were found.

No. 9.

Body weight 465-333 g

Organ	Weight of tissue	Petroleum ether extract		Fatty acid		Unsaponifiable substance	
		g	%	g	%	g	%
Liver	9.3600	0.2252	2.41	0.2002	2.15	0.0247	0.264
Muscle	—	—	—	—	—	—	—
Spleen	0.2400	0.0069	2.88	0.0009	0.38	0.0060	2.500
Lung	2.0800	0.0484	2.32	0.0374	1.79	0.0110	0.528
Kidney	3.0900	0.0474	1.53	0.0322	1.04	0.0152	0.492
Suprarenal	0.4900	0.0383	7.80	0.0286	5.82	0.0097	1.980
Heart	0.8900	0.0078	0.88	0.0052	0.58	0.0026	0.292
Testicle	2.7600	0.0431	1.56	0.0314	1.15	0.0117	0.423
Intestine	22.3900	0.4110	1.83	0.3401	1.51	0.0709	0.316

TABLE VII.

Scurbutic animal. Lived for 18 days. Showed a remarkable degree of scurvy.

No. 10.

Body weight 505-320 g

Organ	Weight of tissue	Petroleum ether extract		Fatty acid		Unsaponifiable substance	
		g	%	g	%	g	%
Liver	9.2453	0.2189	2.38	0.1803	1.96	0.0386	0.418
Muscle	8.8631	0.0621	0.70	0.0481	0.54	0.0140	0.158
Spleen	0.5315	0.0070	1.32	0.0038	0.72	0.0032	0.601
Lung	2.7217	0.0666	2.45	0.0640	1.49	0.0026	0.0955
Kidney	3.3027	0.0640	1.94	0.0488	1.48	0.0152	0.461
Suprarenal	0.5439	0.0382	7.01	0.0252	4.62	0.0130	2.390
Heart	1.0100	0.0126	1.25	0.0088	0.87	0.0038	0.376
Testicle	1.9410	—	—	—	—	—	—
Intestine	23.7632	0.3276	1.38	0.2532	1.07	0.0744	0.313

TABLE VIII.

Scurbutic animal. Lived for 10 days; developed a marked scurvy.

No. 11.

Body weight 440-325 g

Organ	Weight of tissue	Petroleum ether extract		Fatty acid		Unsaponifiable substance	
		g	%	g	%	g	%
Liver	8.9148	0.1508	1.69	0.1418	1.59	0.0090	0.101
Muscle	7.6872	0.0528	0.69	0.0396	0.52	0.0132	0.172
Spleen	0.3135	0.0062	1.98	0.0038	1.22	0.0024	0.761
Lung	2.1692	0.0583	2.68	0.0463	2.13	0.0120	0.553
Kidney	3.5146	0.0498	1.42	0.0371	1.06	0.0127	0.362
Suprarenal	0.5888	0.0440	7.47	0.0292	4.96	0.0148	2.510
Heart	1.0617	0.0100	0.945	0.0070	0.66	0.0030	0.283
Testicle	1.9235	0.0213	1.11	0.0178	0.93	0.0035	0.182
Intestine	22.7750	0.2390	1.05	0.1838	0.81	0.0552	0.243

TABLE IX.

Scorbutic animal. The length of life was 15 days. Showed a very remarkable degree of scurvy.

No. 12.

Body weight 480–335 g

Organ	Weight of tissue	Petroleum ether extract		Fatty acid		Unsaponifiable substance	
		g	%	g	%	g	%
Liver	8.5655	0.0548	0.64	0.0470	0.549	0.0078	0.091
Muscle	9.7705	0.0966	0.99	0.0910	0.928	0.0056	0.057
Spleen	0.4476	0.0060	1.34	0.0014	0.310	0.0046	1.030
Lung	2.5440	0.0496	1.95	0.0470	1.850	0.0026	0.102
Kidney	8.4021	0.0568	1.67	0.0392	1.150	0.0176	0.517
Suprarenal	0.5615	0.0310	5.51	0.0268	4.760	0.0042	0.748
Heart	1.0729	0.0114	1.06	0.0058	0.540	0.0056	0.524
Testicle	2.0391	0.0226	1.11	0.0093	0.460	0.0133	0.652
Intestine	28.7600	0.3952	1.37	0.3137	1.090	0.0815	0.284

TABLE X.

Scorbutic animal. Lived for 14 days; scorbutic changes were marked.

No. 13.

Body weight 485–314 g

Organ	Weight of tissue	Petroleum ether extract		Fatty acid		Unsaponifiable substance	
		g	%	g	%	g	%
Liver	10.8068	0.2266	2.10	0.1954	1.81	0.0312	0.289
Muscle	9.7271	0.0425	0.44	0.0393	0.30	0.0132	0.136
Spleen	0.1630	0.0046	2.82	0.0010	0.61	0.0036	2.210
Lung	4.2289	0.0588	1.39	0.0511	1.21	0.0077	0.182
Kidney	3.6057	0.0668	1.85	0.0490	1.36	0.0178	0.492
Suprarenal	0.4095	0.0316	7.72	0.0218	5.33	0.0098	2.390
Heart	1.0690	0.0128	1.19	0.0080	0.74	0.0048	0.449
Testicle	2.0916	0.0308	1.47	0.0256	1.22	0.0052	0.249
Intestine	19.7874	0.2794	1.42	0.2216	1.13	0.0578	0.292

TABLE XIa.
Fatty Acid % (control).

Organ	Liver	Muscle	Spleen	Lung	Kidney	Suprarenal	Heart	Testicle	Intestine
No. XXI	1.75	—	1.51	2.09	2.05	6.86	1.67	2.22	1.15
XXII	2.47	—	1.90	1.47	2.64	9.75	2.61	2.45	1.32
XXIII	2.52	1.20	2.07	1.96	2.40	6.95	1.99	2.53	1.19
XXIV	2.37	1.38	1.45	2.72	2.46	9.20	1.48	2.89	1.44
Average	2.28	1.29	1.73	2.06	2.78	8.19	1.84	2.53	1.28

TABLE XIb.
Unsaponifiable substance % ((control).

Organ	Liver	Muscle	Spleen	Lung	Kidney	Suprarenal	Heart	Testicle	Intestine
No. XXI	0.233	—	1.04	0.376	0.395	5.74	0.252	0.884	0.246
XXII	0.368	—	1.10	0.620	0.382	8.15	0.312	0.231	0.316
XXIII	0.300	0.204	0.715	0.600	0.585	4.95	0.596	0.648	0.205
XXIV	0.300	0.145	0.700	0.625	0.663	10.90	0.402	1.830	0.298
Average	0.300	0.174	0.889	0.555	0.506	7.44	0.391	0.898	0.266

TABLE XIIa.
Fatty acid % (scurvy).

Organ	Liver	Muscle	Spleen	Lung	Kidney	Suprarenal	Heart	Testicle	Intestine
No. VIII	2.14	0.687	2.12	1.26	1.53	7.11	1.32	1.58	0.832
IX	2.15	—	0.38	1.79	1.04	5.82	0.583	1.15	1.51
X	1.96	0.542	0.72	1.49	1.43	4.62	0.874	—	1.07
XI	1.59	0.515	1.22	2.13	1.06	4.96	0.662	0.928	0.837
XII	—	0.928	0.31	1.85	1.15	4.76	0.540	0.460	1.09
XIII	1.81	0.301	0.61	1.21	1.36	5.33	0.741	1.22	1.13
Average	1.93	0.595	0.89	1.62	1.27	5.43	0.787	1.07	1.08

TABLE XIIb.
Unsaponifiable substance % (scurvy).

Organ	Liver	Muscle	Spleen	Lung	Kidney	Suprarenal	Heart	Testicle	Intestine
No. VIII	0.334	0.143	1.01	0.660	0.415	2.69	0.206	0.234	0.288
IX	0.264	—	2.50	0.528	0.492	1.98	0.292	0.423	0.316
X	0.418	0.158	0.60	0.0955	0.461	2.39	0.376	—	0.313
XI	0.101	0.172	0.76	0.553	0.362	2.51	0.283	0.182	0.243
XII	—	0.057	1.03	0.102	0.517	0.748	0.524	0.652	0.284
XIII	0.289	0.136	2.21	0.182	0.492	2.39	0.449	0.249	0.292
Average	0.281	0.133	1.35	0.497	0.456	2.12	0.355	0.348	0.289

TABLE XIII.

Scorbutic animal. Lived for just 8 days. Scorbutic signs were slight.

No. 14.

Body weight 435-395 g

Organ	Weight of tissue	Petroleum ether extract		Fatty acid		Unsaponifiable substance	
		g	%	g	%	g	%
Liver	11.0218	0.3438	3.12	0.2986	3.01	0.0452	0.110
Muscle	13.7133	0.1905	1.39	0.1677	1.22	0.0228	0.166
Spleen	0.4952	0.0118	2.38	0.0084	1.69	0.0034	0.686
Lung	3.2547	0.0900	2.45	0.0716	1.89	0.0184	0.565
Kidney	2.6653	0.0824	3.08	0.0662	2.47	0.0162	0.607
Suprarenal	0.4405	0.0635	14.40	0.0245	5.55	0.0390	8.850
Heart	1.3232	0.0460	3.48	0.0186	3.27	0.0274	0.208
Testicle	3.4038	0.1459	4.30	0.1325	3.91	0.0134	0.394
Intestine	29.9323	0.4784	1.60	0.4016	1.34	0.0768	0.256

TABLE XIV.

Scorbutic animals. Lived for 8 days, slight scorbutic changes were recognized.

No. 15.

Body weight 406-290

Organ	Weight of tissue	Petroleum ether extract		Fatty acid		Unsaponifiable substance	
		g	%	g	%	g	%
Liver	10.0230	0.2344	2.34	0.1906	1.90	0.0438	0.438
Muscle	10.7824	0.0966	0.899	0.0736	0.69	0.0230	0.213
Spleen	0.2537	0.0086	3.39	0.0056	2.21	0.0030	1.180
Lung	5.6295	0.1346	2.39	0.1028	1.74	0.0318	0.650
Kidney	4.3815	0.0868	3.42	0.0720	3.08	0.0148	0.338
Suprarenal	0.4312	0.0208	5.45	0.0118	3.60	0.0090	1.850
Heart	1.1516	—	—	—	—	—	—
Testicle	1.8168	0.0298	1.64	0.0214	1.18	0.0084	0.462
Intestine	18.7962	0.1802	0.96	0.1366	0.728	0.0436	0.232

(Table XI*a*).

- b. The percentage of the content of unsaponifiable substances.
(Table XI*b*).

B. The case of scorbutic guinea pigs.

- a. The percentage of fatty acid content in organ tissues.
(Table XII*a*).
- b. The percentage of the content of unsaponifiable substances.
(Table XII*b*).

As seen in the above results, the amounts of fatty acid and unsaponifiable substances show an approach to each other. Comparing the percentages of the average amounts of the two substances, fatty acid as compared with that of the normal animal, in the scorbutic side always shows some decrease. Unsaponifiable substances are nearly the same on both sides, but we see that it decreases extremely in the suprarenal capsules of the scorbutic animal. Also in the testicle, it seems to decrease in its average, as compared with that of the control.

The next two instances are of guinea pigs which were fed on vitamin free C diet for about a week and died. As we recognized but the slightest signs of scurvy at the autopsy, we separated them, specially from the above tables. The results are shown in tables XIII and XIV.

As it shown in the above tables, the amounts of each lipid are rather near the normal value, and even unsaponifiable substances in the suprarenal capsules do not decrease so remarkably as those in severe cases of scurvy.

III. CONSIDERATION.

As the first step of our studies on lipid metabolism, we determined total lipoids, fatty acid, and unsaponifiable substances in each organ tissue of the scorbutic guinea pigs, and compared the amounts with values at the normal ones. According to the results of this study, the amounts of fatty acid in scurvy decrease in some degree as compared with the control, probably du to inani-

tion chiefly. In the case of unsaponifiable substances, however, in most organs we found no change except in suprarenal capsules in which the unsaponifiable substance decreased extremely in scurvy; i.e. while the average amount of the unsaponifiable substance in the suprarenal capsules of the control was 7.44%, that of the scurvy animal was only 2.12% on an average. However, here is a fact to be noticed, that in scurvy, the suprarenal capsules of the guinea pigs always become hypertrophic, and accordingly, the weights increase, because, although granting that the absolute amounts do not change, we see increase in the percentages. In our experiment, while the average amount of the suprarenal capsules of the normal guinea pig was 0.2691 gm. that of the scorbutic guinea pig was 0.522 gm. on an average; this is in fact twice as much increase, and while the amount of unsaponifiable substance in the former is 0.0202 gm. it is just 0.011 gm. in the latter. In percentage, the former corresponds to 3.5 times the latter. Therefore the decrease in the unsaponifiable substance in the suprarenal capsules is to be considered as a real decrease. From this point of view, it seems to us that lack of vitamin C has a great influence upon the lipid metabolism of the suprarenal capsules. In the testicles, too, the amount of the unsaponifiable substance showed some decrease as compared with the normal value.

CONCLUSIONS.

1. The amount of fatty acid in organ tissues of the scorbutic guinea pig shows a slight decrease as compared with that of the control.
2. On the contrary, there occurs generally no remarkable change in the amount of unsaponifiable substance, but only suprarenal capsules in scurvy, show an enormous decrease of unsaponifiable substance.

REFERENCES.

- Collazo, J. A. and Bosch, G. (1924): *Biochem. Z.*, **141**.
Mauriquand, Leulier, Michel et Idrae (1925): *Compt. Rend. Acad. Sci.*, **180**.
Mauriquand et Leulier (1925): *Compt. Rend. Acad. Sci.*, **181**.
Randoin et Michaux (1926): *Compt. Rend. Acad. Sci.*, **183**.
Ssokolow, N. A. (1925): *Deutsch. Arch. Klin. Med.*, **145**.

Additional Writings:

The subsidy for natural science by the Educational Department was applied towards the expense of this study.

STUDIES IN EXPERIMENTAL SCURVY.

VI. On the Amounts of Unknown* Unsaponifiable Substance and Cholesterol in Organ Tissues of Guinea Pigs fed on a Vitamin C Free Diet.

By

EIKICHI IGARASHI and TATSUMI TAGAYA

(From the Laboratory of Biological Chemistry of the Tokyo Jikei-kwai Medical College, Tokyo. Director: Prof. T. Nagayama.)

(Received for publication, July 10, 1929.)

I. INTRODUCTION.

There are many studies on the presence of vitamin C in animals and plants in the natural kingdom, but as for the study upon the metabolism in the experimental scurvy caused by lack of vitamin C, there are comparatively few.

Upon this subject Bahrdt and Edestein (1913), Hess and Killian (1918), Lewis and Karr (1916), Baumann and Haward (1917), Collazo ((1923), Palladin (1924), Schepilewskaja and Jarussova (1926), Edestein and Schmal (1926), Nagayama, Machida and Takeda (1928), Nagayama and Sato (1928), Nagayama and Tagaya (1929) and others have reported. Among them, of special interest to us, are the recent studies on the lipoid metabolism of guinea pigs fed on vitamin C free diet. As these works have been already cited in Nagayama and Tagaya's Paper (1927), we have omitted to repeat them here.

Nagayama and Tagaya (1929), examined the quantitative distribution of the fatty acid and unsaponifiable substance in organ tissues of guinea pigs in scurvy; namely in the liver, muscle, spleen,

* We called other substances than cholesterol in total unsaponifiable substance "Unknown unsaponifiable substances."

lungs, kidneys, suprarenal capsules, heart, testicles and intestines. According to the results of this experiment, the amounts of the fatty acid in organ tissues of guinea pigs fed on a diet free from vitamin C, slightly decrease as compared with that of the control, but in the case of unsaponifiable substance, in most organs (nearly the same amount) is contained; in spite of it, as an exception, in the suprarenal capsules of the guinea pigs devoid of vitamin C, there appears a notable decrease. That is, while on the control side the amounts are 7.44% on an average, they are 2.12% on the scorbutic side.

We determined cholesterol and unknown unsaponifiable substance in each organ tissue, to decide whether the decrease of unsaponifiable substance in suprarenal capsules in scurvy found in the results of Nagayama and Tagaya's experiment, was due to cholesterol or to unknown unsaponifiable substance.

II. METHOD OF THE EXPERIMENT.

With the materials (total unsaponifiable substances) obtained in Nagayama and Tagaya's experiment, we determined cholesterol and unknown unsaponifiable substance by the method of Bloor, digitonin and digitalin, but the results here reported are all produced by Bloor's method.

III. CONTROL EXPERIMENT.

The control experiment was carried on with four guinea pigs, fed on Sherman's vitamin C free diet and radish. The amounts of cholesterol and unknown unsaponifiable substance in their organ tissues were determined. The results are as shown in tables I, II, III and IV.

Observing table I, the suprarenal capsules alone surpass by far the other organs in their amounts of the unsaponifiable substance, and they are 5.74%. The amounts of cholesterol are 3.94%, and of the unknown unsaponifiable substance are 1.797%.

TABLE I.

Killed, after feeding on Sherman's vitamin C free diet and fresh radish for 18 days. Water was given ad libitum.

No. 21.

Organ	Weight	Total unsaponifiable substance		Cholesterol		Unknown-unsaponifiable substance	
		gm.	%	gm.	%	gm.	%
Testicle	0.9274	0.0082	0.884	0.0052	0.5608	0.0030	0.3232
Kidney	3.1353	0.0124	0.395	0.00647	0.2064	0.00593	0.1886
Suprarenal capsule	0.3728	0.0214	5.74	0.0147	3.9431	0.0067	1.7969
Liver	18.7673	0.0438	0.233	0.0168	0.0895	0.0270	0.1435
Intestine	27.3828	0.0676	0.246	0.0361	0.1318	0.0315	0.1142
Spleen	0.3860	0.0040	1.026	0.0026	0.6735	0.0014	0.3525
Lung	2.1288	0.0080	0.376	0.0065	0.3053	0.0015	0.0707

TABLE II.

Control. Fed on basal diet and vitamin C. After 23 days, killed.

No. 22.

Organ	Weight	Total unsaponifiable substance		Cholesterol		Unknown-unsaponifiable substance	
		gm.	%	gm.	%	gm.	%
Liver	13.8996	0.0511	0.368	0.0300	0.2158	0.0211	0.1522
Kidney	2.5623	0.0098	0.382	0.0060	0.2342	0.0038	0.1478
Suprarenal capsule	0.2438	0.0199	8.150	0.0150	6.1525	0.0049	1.9975
Lung	2.4489	0.0152	0.620	0.01335	0.5452	0.0018	0.0748
Spleen	0.3529	0.0039	1.100	0.0031	0.8781	0.0008	0.2219
Testicle	1.8177	0.0042	0.231	0.0034	0.1869	0.0008	0.0441
Intestine	23.6276	0.0747	0.316	0.03676	0.1557	0.03794	0.1605

TABLE III.

Control. Fed on basal diet and vitamin C for 22 days. Then killed.
No. 23.

Organ	Weight	Total unsaponifiable substance		Cholesterol		Unknown-unsaponifiable substance	
		gm.	%	gm.	%	gm.	%
Heart	1.1422	0.0068	0.596	0.0044	0.3868	0.0024	0.2092
Muscle	12.7297	0.0259	0.204	0.0127	0.0997	0.0132	0.1043
Kidney	2.9037	0.0170	0.585	0.0094	0.3241	0.0076	0.2609
Lung	2.9272	0.0176	0.600	0.0156	0.5158	0.0025	0.0842
Suprarenal capsule	0.1783	0.0088	4.950	0.0068	3.8249	0.0020	1.1251

TABLE IV.

Control. After feeding for 24 days on basal diet and vitamin C.
Then slaughtered.
No. 24.

Organ	Weight	Total unsaponifiable substance		Cholesterol		Unknown-unsaponifiable substance	
		gm.	%	gm.	%	gm.	%
Heart	1.1220	0.0045	0.404	0.0004	0.0356	0.0041	0.3684
Lung	2.5737	0.0161	0.625	0.0078	0.3026	0.0083	0.3224
Kidney	2.8821	0.0191	0.663	0.0070	0.2428	0.0121	0.4202
Liver	14.9036	0.0446	0.300	0.0221	0.1492	0.0225	0.1508
Spleen	0.3996	0.0028	0.700	0.0006	0.1376	0.00225	0.5624
Testicle	2.2652	0.0414	1.830	0.00938	0.4141	0.0320	0.4159
Intestine	22.8004	0.0680	0.298	0.0266	0.1166	0.0414	0.1814
Suprarenal capsule	0.2815	0.038	10.941	0.0150	5.3285	0.0158	5.6125

As is clear in table II, it is also the suprarenal capsules that contain the largest amounts of unsaponifiable substance. They are figured out to be 8.15% of cholesterol and comprised of 1.998% of the unknown unsaponifiable substances.

As is seen in table III, the suprarenal capsules contain unsaponifiable substance most abundantly, and they are 4.95%, in which 3.83% of cholesterol and 1.12% of the unknown unsaponifiable substances are included.

Table IV, too, shows that the amounts of the unknown unsaponifiable substance in the suprarenal capsules are the richest of all, and that they are really 10.94%, in which 5.33% of cholesterol and 5.61% of the unknown unsaponifiable substance are contained.

IV. EXPERIMENT IN SCURVY.

The same experiment, as mentioned above was performed on six guinea pigs fed on Sherman's vitamin C free diet, and on dissection they showed remarkable changes of scurvy. The results are shown in the following tables, from V to X.

For convenience we put the absolute amounts and the percentages of cholesterol and unsaponifiable substance in one table (Table XI) so that we might be able to compare easily the amounts in each organ on both sides respectively.

The following two instances are deliberately put in different tables (XII and XIII), for on account of the length of life of the scorbutic animals being quite short, the changes in the autopsy findings are also slight.

In these tables too, we notice that the amounts of cholesterol in suprarenal capsules decrease. Of course it may not be proper to judge from this one result, but it is worth while noting that even in the course of only eight days of scurvy, such decrease as this is already brought forth.

TABLE V.

Scorbutic animal fed on Sherman's vitamin C free diet and water. Lived for 16 days, and developed remarkable scorbutic changes.

No. 8. Vitamin C free guinea pigs.

Organ	Weight	Total unsaponifiable substance		Cholesterol		Unknown-unsaponifiable substance	
		gm.	%	gm.	%	gm.	%
Intestine	20.9719	0.0604	0.288	0.0375	0.1788	0.0219	0.1091
Kidney	3.4710	0.0144	0.415	0.0063	0.1815	0.0081	0.2333
Liver	10.7500	0.0360	0.334	0.0139	0.1293	0.0221	0.2056
Muscle	9.5694	0.0137	0.143	0.0050	0.0520	0.0087	0.0909
Suprarenal capsule	0.5409	0.0146	2.690	0.0041	0.7552	0.0105	1.9448
Heart	1.0683	0.0022	0.206	0.0003	0.0281	0.0019	0.1779
Testicle	2.3969	0.0056	0.234	0.0007	0.0292	0.0049	0.2048

TABLE VI.

Scorbutic animal. Lived for 12 days. Scorbutic signs were found.

No. 9.

Organ	Weight	Total unsaponifiable substance		Cholesterol		Unknown-unsaponifiable substance	
		gm.	%	gm.	%	gm.	%
Spleen	1.2400	0.0060	0.484	0.0025	0.2016	0.0035	0.2822
Kidney	3.090	0.0152	0.492	0.00535	0.1731	0.00985	0.3189
Lung	2.080	0.0110	0.528	0.0047	0.2258	0.0063	0.3022
Liver	9.360	0.0247	0.264	0.0108	0.1154	0.0139	0.1486
Testicle	2.760	0.0117	0.423	0.0044	0.1594	0.0073	0.2636
Suprarenal capsule	0.4900	0.0097	1.980	0.0047	0.9591	0.0050	1.0209
Heart	0.8900	0.0026	0.292	0.0005	0.0562	0.0021	0.2338

TABLE VII.

Scorbutic animal. Lived for 18 days. Showed a remarkable change of scurvy.
No. 10.

Organ	Weight	Total unsaponifiable substance		Cholesterol		Unknown-unsaponifiable substance	
		gm.	%	gm.	%	gm.	%
Liver	9.2453	0.0386	0.418	0.0172	0.1861	0.0214	0.2391
Intestine	23.7652	0.0744	0.313	0.0446	0.1876	0.0298	0.1254

TABLE VIII.

Scorbutic animal. Lived for 16 days; developed a marked scurvy.
No. 11.

Organ	Weight	Total unsaponifiable substance		Cholesterol		Unknown-unsaponifiable substance	
		gm.	%	gm.	%	gm.	%
Muscle	7.6872	0.0132	0.172	0.0054	0.0702	0.0078	0.1018
Spleen	0.3135	0.0824	0.765	0.0007	0.2232	0.0017	0.5418
Testicle	1.9235	0.0035	0.182	0.0005	0.02599	0.0030	0.1560
Heart	1.0617	0.0030	0.283	0.0003	0.0283	0.0027	0.2547
Suprarenal capsule	0.5888	0.0148	2.510	0.0050	0.8491	0.0098	1.6609
Intestine	22.7750	0.0550	0.243	0.0167	0.0733	0.0385	0.1697
Lung	2.1692	0.0120	0.553	0.0008	0.0368	0.0112	0.5162
Kidney	3.5146	0.0127	0.362	0.0060	0.1707	0.0067	0.1916

TABLE IX.

Scorbutic animal. The length of life was 15 days. Showed a very remarkable change of scurvy.

No. 12.

Organ	Weight	Total unsaponifiable substance		Cholesterol		Unknown-unsaponifiable substance	
		gm.	%	gm.	%	gm.	%
Heart	1.0729	0.0056	0.521	0.0041	0.3821	0.0015	0.1398
Spleen	0.4476	0.0046	1.030	0.0023	0.5138	0.0023	0.5162
Lung	2.5440	0.0026	0.1020	0.0007	0.0275	0.0019	0.0745
Kidney	3.4021	0.0176	0.5170	0.0105	0.3086	0.0071	0.2084
Testicle	2.0391	0.0133	0.652	0.0068	0.3335	0.0065	0.3185

TABLE X.

Scorbutic animal. Lived for 14 days; scorbutic changes were marked.

No. 13.

Organ	Weight	Total unsaponifiable substance		Cholesterol		Unknown-unsaponifiable substance	
		gm.	%	gm.	%	gm.	%
Intestine	19.7874	0.0578	0.292	0.0338	0.1710	0.0240	0.1210
Liver	10.8068	0.0312	0.289	0.00618	0.0571	0.0250	0.2319
Kidney	3.6057	0.0178	0.492	0.0078	0.2163	0.0100	0.2757
Suprarenal capsule	0.4095	0.0098	2.393	0.0038	0.9279	0.0060	1.4621
Testicle	2.0916	0.0052	0.249	0.0009	0.0430	0.0043	0.2060
Heart	1.0690	0.0048	0.449	0.0038	0.3508	0.00105	0.0982
Muscle	9.7271	0.0132	0.136	0.0024	0.0246	0.0108	0.1114
Lung	4.2289	0.0077	0.182	0.0007	0.0165	0.0070	0.1655

TABLE XI.

Organ	Each Average Amount					
	Control			Scurvy		
	Cholesterol		Unknown-unsaponifiable substance	Cholesterol		Unknown-unsaponifiable substance
Liver	gm. 0.0227	% 0.1486	gm. 0.0236 % 0.1488	gm. 0.0120 % 0.1195	gm. 0.0206 % 0.2042	
Spleen	0.0021	0.5380	0.00148 0.3805	0.0018 0.3124	0.0025 0.4467	
Lung	0.0107	0.4172	0.00355 0.1391	0.00203 0.0869	0.0051 0.1809	
Kidney	0.0062	0.2515	0.0074 0.2545	0.0072 0.2481	0.0079 0.2457	
Suprarenal capsule	0.0128	4.8121	0.0075 2.6330	0.0044 0.8728	0.0073 1.5114	
Heart	0.00244	0.2146	0.0033 0.2838	0.0018 0.1691	0.0037 0.1848	
Testicle	0.0060	0.3872	0.0119 0.5944	0.00266 0.1182	0.0052 0.2320	
Intestine	0.0331	0.1347	0.0336 0.1520	0.03065 0.1528	0.0288 0.1312	
Muscle	0.0127	0.0997	0.0132 0.1043	0.00436 0.0456	0.0091 0.1010	

TABLE XII.

Scorbutic animal. Lived for 8 days. Scorbutic signs were slight.
No. 14.

Organ	Weight	Total unsaponifiable substance		Cholesterol		Unknown-unsaponifiable substance	
		gm.	%	gm.	%	gm.	%
Lung	3.2547	0.0184	0.565	0.0115	0.3533	0.0069	0.2117
Muscle	13.7133	0.0228	0.166	0.0098	0.0715	0.0130	0.0945

TABLE XIII.

Scorbutic animal. Lived for 8 days. Slight scorbutic changes were recognized.
No. 15.

Organ	Weight	Total unsaponifiable substance		Cholesterol		Unknown-unsaponifiable substance	
		gm.	%	gm.	%	gm.	%
Lung	5.6295	0.0318	0.565	0.0207	0.3677	0.0111	0.1973
Liver	10.0230	0.0438	0.436	0.0161	0.1603	0.0277	0.2757
Suprarenal capsule	0.4312	0.0090	2.0871	0.0050	1.1595	0.0047	0.9276

COMMENT.

Summarizing the results of the above experiment, on the control side, the organ tissue which contains the largest amounts of cholesterol, is the suprarenal capsule, its average amounts being 4.812%. The amounts in the other organs are far less than them. The unknown unsaponifiable substance is also contained in the richest amounts in the suprarenal capsules, amounting 2.63% on an average. They surpass the other organs by far in the amount of this substance. In the guinea pigs lacking vitamin C, it is also the suprarenal capsules that contain cholesterol most abundantly, even though it is less when compared with that of the control; the percentage is 0.872%. Cholesterol in the other organs, is by far

less than in the suprarenal capsules. In the case of the unknown unsaponifiable substance, it is the same as in the case of cholesterol, and it is figured out to be 1.51%.

Comparing each average amount of cholesterol with that of unsaponifiable substance, contained in organ tissues of guinea pigs free from vitamin C and in that on the control side, the difference of the two substances is remarkable only in the suprarenal capsules, while in other organs, it is hardly recognizable. The amount of cholesterol contained in the suprarenal capsules of guinea pigs lacking vitamin C is namely much smaller than that of the control animal either in its absolute amount or in percentage, while in the unknown unsaponifiable substance, those free from vitamin C show decrease in percentage, but remain unchanged in the absolute amount. As is shown in the above table, in scorbutic guinea pigs, suprarenal capsules become hypertrophic twice as much as the weight of the control side. The average weight of suprarenal capsules in the control, is 0.3037 gm. and 0.5181 gm. in those devoid of vitamin C. Therefore, even in case there is no change in the absolute amount, is the hypertrophic suprarenal capsules shows a decrease in percentage.

But as a result of our experiment, the percentage of cholesterol in the both suprarenal capsules of the animals free from vitamin C as compared with that of the control, decreases to one-fifth the latter, and also in its absolute amount, it is but one-third. Therefore, the difference between these amounts is not simply caused by hypertrophy of suprarenal capsules.

On the contrary, as for the amount of the unknown unsaponifiable substance, although their percentage amount in the suprarenal capsules of scorbutic animals decreases in comparison with those of the control, to about one-half, it does not show any real substantial decrease. The weight of suprarenal capsules of the former being twice as much as the control, the absolute amount of the unknown unsaponifiable substance shows no difference.

It is already clear by the experiment of Nagayama and

Tagaya (1929) that there occurs a remarkable decrease of total unsaponifiable substance, in the suprarenal capsules of guinea pigs fed on a vitamin C free diet, and in ours we could explain that the phenomenon rises mainly from the decrease of cholesterol but not from the unknown unsaponifiable substance.

CONCLUSIONS.

1. The decrease of unsaponifiable substance in the suprarenal capsules of guinea pig lacking vitamin C, depends upon the decrease of cholesterol.

2. In this case the amount of the unknown unsaponifiable substance does not differ from that of the control.

3. In guinea pigs, deprived of vitamin C, the amount of cholesterol in the lungs decreases markedly as compared with that of the control and also in the testicles and in the muscle there is a slight decrease of cholesterol.

REFERENCE.

- Bahrddt and Edestein (1913): Scurvy Past and Future by Hass 1920.
Baumann and Haward (1918): Am. J. Med. Soc., **153**, 650.
Collazo, J. A. (1923): Biochem. Z., **139**, 20.
Edestein, E. und Schmal, S. (1926): Zeitschr. f. Kinderheilk., **41**.
Hess and Killian (1918): Proc. Soc. Exp. Biol. Med.
Lewis, H. and Karr, W. (1916): J. Biol. Chem., **28**, 17.
Nagayama, T.; Machida, H. and Takeda, Y. (1928): J. of Biochem., **10**, 17.
Nagayama, T. and Sato, N. (1928): J. of Biochem., **10**, 27.
Nagayama, T. and Tagaya, T. (1929): J. of Biochem., **11**.
Palladin, A. (1924): Biochem. Z., **152**.
Schepilewskaja, N. and Jaraussova, N. (1926): Biochem. Z., **167**, 245.

Additional Writings:

The subsidy for natural science by the Educational Department was applied towards the expense of this study.

ÜBER DEN EINFLUSS DER GALLENSÄURE AUF DIE SALZAUSSCHIEDUNG IM HARN.

VON

TADAO SEKITOO.

(Aus dem *physiologisch-chemischen Institut zu Okayama.*

Vorstand: Prof. Dr. T. Shimizu.)

(Eingegangen am 12. Juli 1929.)

Die Salze sind zum Leben ebenso wichtig wie Fette, Kohlenhydrate und Eiweiss. Jedes Salz hat seine besonderen Partialaufgaben, und alle zusammen haben eine Gesamtaufgabe, nämlich die Aufrechterhaltung der Isotonie, die für den Organismus die grösste Bedeutung hat. Von den Kationen sind Na, K, und Ca die wichtigsten und gerade diese drei stehen zueinander in einer bestimmten Proportion, die für die Erregbarkeit und die Erregung von Nervensystem und Muskulatur von sehr erheblicher Bedeutung ist. Unter diesen drei nimmt wieder das Natrium eine Vorzugstellung ein, da es in der Nahrung die Hauptrolle spielt und nicht in grösseren Mengen auf längere Zeit gestapelt werden kann. Aus diesem Grund ist das Studium dieses Kations, besonders des Kochsalzes, relativ am weitesten fortgeschritten. Aus den wichtigen Untersuchungen von Jungmann und E. Meyer (1913) über den sog. Salzstich geht hervor, dass der Einstich in die Medulla oblongata die Wasser- und Salzausfuhr gleichzeitig erhöht, obwohl er in anderen Fällen nur die Kochsalzausfuhr allein beeinflussen kann.

Totale Entnervung der Niere erhöht die Ausscheidung der festen Bestandteile des Harns zwar absolut, aber nicht in gleichem Masse wie die des Wassers, nur bei Kochsalz ist ein völliger Parallelismus vorhanden. Die Splanchnicusdurchschneidung wirkt nach Jungmann u. E. Meyer (1913) und Ellinger (1921) in gleichem Sinne, wenn auch quantitativ nicht so stark.

Demnach ist der Splanchnicus für die Kochsalzausscheidung der hemmende Nerv. Die Vagusdurchschneidung führt nach Ellinger (1921) meist, nach Jungmann u. E. Meyer (1913) nicht immer, zu einer Verminderung der Salzausscheidung, die Vagusreizung zu einer Vermehrung. Wie oben erwähnt, wird die Salzausscheidung durch die nervöse Beeinflussung stark verändert. Im Jahre 1925–26 haben Mozai und seine Schüler Mitteilung gemacht über die Veränderungen des anorganischen Salzgehalts im Harn durch verschiedene vegetative Gifte und erklärt, dass das Calcium bei Zufuhr von Adrenalin eine beträchtliche Vermehrung erfährt, während das Magnesium dadurch nicht deutlich verändert wird und im Gegenteil Natrium und Kalium eine Verminderung zeigen. Was die Phosphorsäure und Schwefelsäure betrifft, so zeigte sich bei diesen eine geringe Vermehrung. Es ist schon lange bekannt, dass das Adrenalin auf den Sympathicus reizend wirkt, ebenso wie das Calcium, dessen Wirkung durch die Untersuchung von Zondeck (1922 u. 1925) bewiesen wurde. Nach ihm soll die Natrium- und Kaliumwirkung eine Vagusreizung hervorrufen.

Nach Kylin u. Nyström (1925) ähnelt die Calciumwirkung der des Adrenalins. Nach Kitayama (1927) soll das Zuckerzentrum in der Medulla oblongata die Adrenalinausschüttelung aus der Nebenniere unter Vermittelung der Nn. Splanchnici bewirken, dadurch den Calciumwert im Blut vermindern und im Calciumhaushalt eine gewisse Rolle spielen. Aus den oben erwähnten Befunden sieht man eine unverkennbare innige Beziehung zwischen der Salzwirkung und der Wirkung der vegetativen Nerven, welche letztere mit der Wirkung von innersekretorischen Substanzen in inniger Beziehung steht.

Im hiesigen Institut haben Misaki (1927), Taku (1928), Murakami (1928) und Teiji Okamura bewiesen, dass die Gallensäure gegen das Adrenalin antagonistisch wirkt. Da der Salzstoffwechsel einerseits von der Funktion des vegetativen Nervensystems abhängig ist, andererseits die Gallensäure hormonale

Wirkung hat, so ist es nicht ohne Bedeutung, den Einfluss der Gallensäure auf die Salzausscheidung im Harn zu untersuchen.

Wenn die Gallensäure den Purinstoffwechsel fördert, wie R. Karasawa (1926–27) in seinen Versuchen beobachtet hat, muss die damit zusammenhängende Phosphorsäureausscheidung im Harn beeinflusst werden. Tatsächlich hat Hatakeyama (1927) bewiesen, dass bei Stauungsikterus die Phosphorsäureausscheidung im Harn mit der Allantoinausscheidung parallel erhöht wird. Daraus hat er geschlossen, dass die vermehrte Ausscheidung der Phosphorsäure bei Stauungsikterus auf der rückresorbierten überschüssigen Gallensäure beruht.

Nach Karasawa (1926) und Hatakeyama (1927) wird der Eiweissstoffwechsel bei subcutaner Zufuhr von Gallensäure oder bei Stauungsikterus herabgesetzt, indem sich die N-Ausscheidung im Harn im allgemeinen vermindert. Es ist eine bekannte Tatsache, dass die Schwefelsäure zum Teil als Oxydationsprodukt des Eiweisses im Harn ausgeschieden wird.

In diesem Sinne ist es von Bedeutung, bei subcutaner Zufuhr von Gallensäure die Schwefelsäureausscheidung im Harn parallel mit der Stickstoffausscheidung zu untersuchen, weil bei Stauungsikterus ein Überschuss von Gallensäure im Blut auftritt, wenn auch die Gallensäure durch die Tätigkeit der Leber vom allgemeinen Blutstrom ferngehalten wird, wie von G. Bayer (1908) nachgewiesen wurde.

Experimenteller Teil.

METHODIK.

Als Versuchstiere wurden im Käfig ruhig gehaltene, kräftig entwickelte männliche Kaninchen verwendet. Das Kaninchen wurde mit folgender Nahrung 2 bis 3 Wochen lang gefüttert: trockene Okara 50 g, frisches Gemüse 50 g und Wasser 120 ccm. Erst nachdem das Körpergewicht und die Harnmenge des Tieres konstant geworden war, wurde mit dem Versuch begonnen. Der

tägliche Harn wurde von morgens 8 Uhr bis zum folgenden Morgen 8 Uhr gesammelt und durch Katheterisieren scharf abgegrenzt. Nachdem die Menge, das spezifische Gewicht und die Reaktion des Harns geprüft worden waren, wurde der Harn samt dem Waschwasser des Käfigs mit verdünnter Essigsäure angesäuert und die vorhandene Trübung gelöst aufgeklärt, mit Wasser zu einem bestimmten Volumen verdünnt und klar abfiltriert. Das Körpergewicht des Tieres wurde direkt nach der Entleerung des Harns festgestellt. Nachdem der tägliche Stickstoffwert im Harn einige Tage hindurch annähernd konstant geworden war, wurde dem Kaninchen 1%ige Natriumcholatlösung, 1–1,5 ccm. pro Kg. Körpergewicht, subcutan injiziert und der Harn noch weiter 3–4 Tage lang geprüft. Mit dem Harn bestimmte ich das Chlorid nach Volhard-Salkowskischer Methode, die Phosphorsäure nach Neumann (1902–05), den Gesamtstickstoff nach Kjeldahl, die Gesamtschwefelsäure nach Folin (1906), Calcium und Magnesium gewichtsanalytisch nach McCrudden (1910) und Natrium u. Kalium nach der Vorschrift von Hoppe-Seyler (1924). Im Blut habe ich Calcium und Magnesium nach der von Inouye (1922) modifizierten Methode von De Waard bestimmt und zwar erst 3–3½ Stunden nach der Injektion von 1%iger Cholatlösung. Die Kontrolluntersuchung habe ich ohne Zufuhr von Cholatlösung ausgeführt.

I. ÜBER DEN EINFLUSS DER CHOLSÄURE AUF DIE AUSSCHIEDUNG
VON CHLORID, PHOSPHORSÄURE, SCHWEFELSÄURE UND
GESAMTSTICKSTOFF IM HARN.

Aus den Versuchen 1–7 der Tabelle I ist ersichtlich, dass das Chlorid sich bei Zuzuhr von Cholsäure meistens absolut vermindert, aber prozentual vermehrt. Dass sich bei dem Kochsalz der absoluten Menge nach eine verminderte Ausscheidung zeigt, beruht auf der verminderten Wasserausscheidung. Also bewirkt die Cholsäure eine Verminderung der Wasserausfuhr, aber nicht der Kochsalzausfuhr.

Nach Jost (1914) wirkt die Sympathicusreizung hemmend auf die Wasserausscheidung. Für die Kochsalzausscheidung ist der Splanchnicus nach Jungmann u. E. Meyer (1913) und Ellinger (1921) der hemmende Nerv. In meinem Versuch hatte die Cholsäure keinen Einfluss auf die Kochsalzausscheidung. Daher ist die nervöse Beeinflussung der Wasserausscheidung unentschieden. Vielmehr scheint die verminderte Wasserausscheidung bei Zufuhr von Cholsäure nur der veränderten Wasserverteilung in den Geweben zuzuschreiben zu sein.

Die Versuche 1-7 der Tabelle I zeigen, dass der Wert des Gesamtstickstoffs sich vermindert und derjenige der Phosphorsäure sich vermehrt. Die Ergebnisse stimmen gut mit den Resultaten von Karasawa (1927-28) und Hatakeyama (1917) überein. Was die Schwefelsäureausscheidung betrifft, so wurde der gesamte Schwefelsäuregehalt im Harn vermindert gefunden. In meinen Versuchen vermindert sich bei Zufuhr von Cholsäure die Schwefelsäureausscheidung parallel mit der Stickstoffausscheidung. Aus diesen Tatsachen geht hervor, dass der Eiweissstoffwechsel durch die subcutane Zufuhr von Gallensäure herabgesetzt wird. Dagegen wurde von Kaziro (1927) beobachtet, dass die Schwefelsäureausscheidung im Harn bei peroraler Zufuhr von Gallensäure erhöht wird. Daraus hat er geschlossen, dass der Eiweissstoffwechsel in der Leber durch Gallensäure gefördert wird.

II. ÜBER DEN EINFLUSS DER CHOLSÄURE AUF DIE AUSSCHIEDUNG VON CALCIUM, MAGNESIUM, NATRIUM UND KALIUM.

Aus den Versuchen der Tabelle II sieht man, dass die Erdalkalien, besonders das Calcium, im Harn sich bei Zufuhr von Cholsäure vermehren. Es ist schon von vielen Autoren, wie Misaki (1927), Murakami (1928), Teiji Okamura experimentell bewiesen worden, dass die Gallensäure gegen das Adrenalin antagonistisch wirkt, und der Adrenalingehalt der Nebenniere durch die Zufuhr von Gallensäure vermindert wird. Wie durch

TABELLE I.

Datum	Körpergewicht (g)	Harnmenge (cem)	Reaktion	Spec. Gewicht	Chlorid		Phosphorsäure (g)	Gesamtstickstoff (g)	Schwefelsäure (g)	Bemerkungen
					Gesamt (g)	%				
Versuch 1.										
(1928)			Schwach alkalisch							
1/7	2350	101	"	1023	0,880	0,870	0,2226	1,6000	0,1572	Cholatlösung pro Kg. Körpergewicht 1,5 cem injiziert
2	2300	98	"	1022	1,000	1,020	0,2226	1,5792	0,1181	
3	2370	92	"	1022	0,890	0,915	0,2226	1,6000	0,1099	
4	2360	93	"	1023	0,875	0,940	0,2287	1,5904	0,1099	
5	2370	80	"	1025	0,870	1,087	0,2429	1,5120	0,1056	
6	2370	73	"	1025	0,875	1,165	0,2388	1,5344	0,1053	"
7	2360	70	"	1029	0,900	1,285	0,2267	1,6240	0,1393	
8	2380	72	"	1025	0,900	1,250	0,2155	1,6016	0,1082	
9	2385	80	"	1027	0,935	1,169	0,2226	1,5792	0,1079	
10	2400	80	"	1023				1,5680	0,1142	
Versuch 2.										
3/7	2275	100	"	1020			0,1680	1,6016	0,1020	Cholatlösung pro Kg. Körpergewicht 1,5 cem injiziert
4	2290	102	"	1021	0,800	0,665	0,1700	1,5905	0,1012	
5	2270	98	"	1020	0,660	0,675	0,1660	1,5568	0,1006	
6	2280	80	"	1025	0,775	0,905	0,1619	1,5458	0,0975	
7	2290	60	"	1026	0,575	0,915	0,1971	1,3712	0,0863	
8	2285	68	"	1025	0,570	0,845	0,2224	1,4336	0,0955	"
9	2280	68	"	1026	0,375	0,554	0,1864	1,5120	0,1013	
10	2300	70	"	1026	0,300	0,425	0,1781	1,5344	0,1009	
11	2290	80	"	1025	0,615	0,765	0,1841	1,6240	0,1013	

Versuch 3.

15/9	2465	105		1022			0,2105	1,8704	0,1352
16	2465	93	"	1025		0,765	0,2115	1,8480	0,1351
17	2460	123	"	1018		1,000	0,2125	1,8592	0,1354
18	2445	100	"	1020		1,000	0,2145	1,8424	0,1393
18	2445	110	"	1020		1,000	0,2247	1,6576	0,1078
19	2445	100	"	1023		1,000			"
20	2445	114	"	1020		0,975	0,2186	1,6688	0,0981
21	2450	105	"	1019		0,950	0,2206	1,5776	0,0866
22	2460	100	"	1021		0,950	0,1953	1,6104	0,1126
23	2480	135	"	1017		0,950	0,2044	1,9264	0,1718
24	2480	102	"	1022		0,875	0,2135	1,9264	0,1758

Versuch 4.

17/9	2320	91		1023			0,1411	1,6688	0,1501
18	2340	80	"	1025		1,110	0,1477	1,6464	0,1585
19	2345	120	"	1017		0,875	0,1396	1,6464	0,1516
20	2330	118	"	1015		0,885	0,1214	1,6352	0,1475
21	2330	105	"	1020		1,000	0,1558	1,5608	"
22	2335	105	"	1020		0,955	0,1568	1,4896	0,1497
23	2340	109	"	1015		0,915	0,1378	1,4336	0,1511
24	2335	100	"	1019		0,950	0,1417	1,5120	0,1600
25	2340	120	"	1018		0,810	0,1437	1,7462	0,1566
26	2340	105	"	1020		0,950	0,1491	1,6912	0,1750

Versuch 5.

3/10	2550	94		1020			0,2459	2,0496	0,3408
4	2550	100	"	1024		1,140	0,2433	2,0160	0,1435
5	2550	98	"	1025		1,050	0,2439	1,9376	0,1410
6	2570	112	"	1022		1,125	0,2369	2,0050	0,1480
7	2540	93	"	1023		1,075	0,2610	1,9040	0,1067
8	2520	88	"	1024		0,900	0,2570	1,8480	0,1055

Datum	Körpergewicht (g)	Harnmenge (ccm)	Reaktion	Spec. Gewicht	Chlorid		Phosphorsäure (g)	Gesamtstickstoff (g)	Schwefelsäure (g)	Bemerkungen
					Gesamt- (g)	%				
9	2500	80	Schwach alkalisch	1024	0,950	1,110	0,2226	1,6560	0,0841	
10	2500	102	"	1023	0,925	0,905	0,2346	1,9264	0,1346	
11	2560	94	"	1022	1,100	1,170	0,2459	1,9600	0,1661	
12	2560	82	"	1025	0,950	1,155	0,2155	2,0048	0,1445	
Versuch 6.										
(1929)										
9/1	2420	100	"	1026	0,955	0,955	0,1514	1,9320	0,1409	Cholatlösung pro Kg. Körpergewicht 1,5 ccm
10	2430	115	"	1025	0,950	0,836	0,1728	2,0020	0,1647	← injiziert
11	2430	114	"	1026	0,980	0,859	0,1644	2,0720	0,1445	"
12	2445	110	"	1023	0,975	0,885	0,2313	1,9580	0,1369	←
13	2430	108	"	1022	0,950	0,875	0,2116	1,8900	0,1385	"
14	2445	110	"	1024	0,900	0,818	0,2159	1,9045	0,1373	
15	2465	108	"	1026	0,900	0,780	0,2111	1,9740	0,1428	
16	2485	119	"	1024	0,925	0,775	0,1888	2,0440	0,1821	
17	2480	115	"	1022	1,000	0,880	0,1669	1,9650	0,1749	
Versuch 7.										
8/1	2480	110	"	1024	1,000	0,905	0,1300	1,8040	0,2176	Cholatlösung pro Kg. Körpergewicht 1,5 ccm
9	2525	102	"	1025	1,050	1,075	0,1300	1,8900	0,2204	← injiziert
10	2494	100	"	1025	0,950	0,950	0,1325	1,9650	0,2210	"
11	2550	98	"	1026	0,950	0,966	0,1377	1,9320	0,2143	
12	2545	91	"	1025	0,900	1,135	0,1531	1,8900	0,1449	←
13	2580	95	"	1022	0,900	0,917	0,1475	1,4005	0,0658	"
14	2565	120	"	1020	0,903	0,760	0,2725	1,6940	0,1672	
15	2545	125	"	1020	0,975	0,780	0,2333	1,7780	0,1346	
16	2560	97	"	1022	0,900	0,930	0,1465	1,8060	0,1499	
17	2575	118	"	1021	0,950	0,825	0,1822	1,8765	0,1897	

die Versuche von Kitayama (1927), Mozai und Kawashima (1925–26) bewiesen worden ist, wird durch die Zufuhr von Adrenalin Hypocalcaemie hervorgerufen. Aus den Daten scheint mir hervorzugehen, dass die Vermehrung der Erdalkalien im Harn auf der verminderten Adrenalinsekretion der Nebenniere beruht.

Nach diesem Ergebnis kann man wohl zu der Ansicht kommen, dass bei der Salzausscheidung ein Antagonismus zwischen Gallensäure und Adrenalin besteht. Dagegen wird ein der absoluten Menge nach verminderter Gehalt des Harns an Alkalien festgestellt, was aus den Versuchen der Tabelle II ersichtlich ist. Aber der prozentuale Gehalt an Natrium wurde in den meisten Fällen vermehrt gefunden. Also übt die Zufuhr von Cholsäure auf die Ausscheidung des Natriums im Harn keinen Einfluss aus, wie es bei der Chlorausscheidung der Fall ist. Aus diesem Ergebnisse geht hervor, dass eine Kochsalzverschiebung im Organismus bei Zufuhr von Gallensäure nicht stattgefunden zu haben scheint. Was den prozentualen Gehalt an Kalium betrifft, so wurde unter 5 Fällen bei dreien eine Verminderung, bei zweien eine Vermehrung desselben gefunden. Also neigt das Kalium zu verminderter Ausscheidung. Ich möchte glauben, dass die Neigung zur verminderten Ausscheidung des Kaliums der veränderten Wasserverteilung in den Geweben zuzuschreiben sei.

III. ÜBER DEN EINFLUSS DER CHOLSÄURE AUF DEN ERDALKALIEN-GEHALT DES BLUTES.

In der Tabelle III sieht man, dass der Erdalkaliengehalt des Blutes durch die Zufuhr von Cholsäure erhöht wird. Also ruft die Zufuhr von Cholsäure eine Vermehrung der Erdalkalien sowohl im Harn als auch im Blut hervor. Durch diese Tatsache ist bewiesen, dass die Gallensäure auf den Calciumstoffwechsel einen beträchtlichen Einfluss ausübt, indem sie die Calciumverteilung im Organismus verändert. Aus diesem Grunde kann man wohl annehmen, dass bei Stauungsikterus durch den Überschuss der

TABELLE II.

Datum	Körper- gewicht (g)	Harn- menge (ccm)	Reaction	Spec. Gewicht	CaO (g)	MgO (g)	Na (g)	Na (%)	K (g)	K (%)	Bemerkungen.
Versuch 1.											
(1929)			Schwach alkalisch								
22/1	2500	130	"	1022	0,1885	0,1025	1,2625	0,9941	0,4217	0,3320	Cholatlösung pro Kg. Körper- gewicht 1,5 ccm injiziert " "
23	2470	127	"	1022	0,1855	0,0898	1,2207	0,9547	0,3587	0,2802	
24	2470	128	"	1022	0,1465	0,1022	1,3825	1,3001	0,4797	0,4442	
25	2490	108	"	1024	0,1385	0,1037	1,1629	0,9855	0,3274	0,2774	
26	2515	118	"	1024	0,2410	0,1215					
27	2510	120	"	1025	0,3461	0,1487	1,1320	0,9433	0,3314	0,2761	
28	2485	132	"	1022	0,2055	0,0543	1,3766	1,0429	0,2300	0,1742	
29	2505	130	"	1023	0,1760	0,0911	1,2364	0,9511	0,3443	0,2648	
30	2498	128	"	1022	0,1725	0,0855					
31	2505	125	"	1021	0,1560	0,0755					
Versuch 2.											
25/1	2505	125	"	1021	0,1560	0,0891	1,1507	0,9213	0,4370	0,3496	Cholatlösung pro Kg. Körper- gewicht 1,0 ccm injiziert " "
26	2515	120	"	1024	0,1725	0,0973	1,1725	0,9771	0,4556	0,3496	
27	2520	116	"	1022	0,1620	0,0945	1,0454	0,9012	0,4215	0,3634	
28	2530	120	"	1022	0,2755	0,1072	1,2724	1,0603	0,4435	0,3593	
29	2520	115	"	1025	0,2340	0,1119	0,9901	0,8614	0,4312	0,3749	
30	2500	130	"	1020	0,2920	0,0868	1,2373	0,9518	0,3040	0,2338	
31	2500	125	"	1024	0,1310	0,0999	1,3684	1,0947	0,2489	0,1991	
1/2	2530	110	"	1025	0,2075	0,0967					
2	2530	120	"	1023	0,1945	0,0865					

Versuch 3.

8/2	2530	120	"	1023	0,1945	0,0865	1,0470	0,8725	0,2387	0,1991	Cholatlösung pro Kg. Körper- gewicht 1,0 ccm ← injiziert "
9	2520	123	"	1021	0,2000	0,0851	1,0394	0,8450	0,2313	0,1880	
10	2500	140	"	1021	0,2210	0,0952	1,0221	0,7301	1,2444	0,1746	
11	2485	115	"	1020	0,2750	0,0996	0,9984	0,8682	0,2281	0,1983	
11	2485	108	"	1023	0,3491	0,0950	1,0443	0,9669	0,2356	0,2181	
12	2490	138	"	1022	0,2030	0,1036	0,9541	0,6914	0,2320	0,1681	
13	2500	120	"	1023	0,2000	0,1144	1,0380	0,8650	0,2308	0,1923	Cholatlösung pro Kg. Körper- gewicht 1,0 ccm ← injiziert "
14	2500	115	"	1022	0,1880	0,0887					

Versuch 4.

27/1	2745	120	"	1025	0,1595	0,0833	1,0070	0,8056	0,2862	0,2290	Cholatlösung pro Kg. Körper- gewicht 1,0 ccm ← injiziert "
28	2735	125	"	1025	0,1840	0,0773	0,9329	0,8329	0,2594	0,2316	
29	2715	112	"	1024	0,1575	0,0699	0,9676	0,8063	0,3061	0,2551	
30	2735	120	"	1023	0,1895	0,0731	0,9676	0,8063	0,3061	0,2551	
31	2710	115	"	1024	0,1795	0,1035	0,9398	0,8172	0,2343	0,1019	
1/2	2700	107	"	1025	0,2040	0,0998	0,8889	0,8305	0,2542	0,2375	
2	2685	115	"	1022	0,1520	0,1028	1,0412	0,9034	0,3008	0,2616	Cholatlösung pro Kg. Körper- gewicht 1,0 ccm ← injiziert "
3	2650	122	"	1026	0,1940	0,0884	1,0210	0,8369	0,3443	0,2822	
4	2650	122	"	1025	0,1860	0,0959					
5	2640	110	"	1025	0,1795	0,0815					

Versuch 5.

9/2	2650	130	"	1025	0,1530	0,0742	1,5439	1,1877	0,4947	0,3805	Cholatlösung pro Kg. Körper- gewicht 2,0 ccm ← injiziert "
10	2650	124	"	1025	0,1790	0,0645	1,3544	1,0923	0,4655	0,3754	
11	2650	118	"	1025	0,1270	0,0619	1,3457	1,3099	0,4969	0,4211	
12	2670	110	"	1026	0,2870	0,1075	1,5030	1,3663	0,4712	0,4284	
13	2670	114	"	1024	0,2570	0,0663	1,5837	1,3892	0,3580	0,3140	
14	2675	140	"	1025	0,2340	0,0702	1,7765	1,2789	0,3519	0,2514	
15	2670	120	"	1026	0,2860	0,0800	1,5065	1,2554	0,5013	0,4178	Cholatlösung pro Kg. Körper- gewicht 2,0 ccm ← injiziert "
16	2670	125	"	1025	0,2795	0,0872					
17	2665	124	"	1035	0,2350	0,0754					

TABELLE III.

Nr.	Datum	Körper- gewicht (g)	Injizierte Cholatlösung (cc)	Ca. Gehalt (mg%)		Mg. Gehalt (mg%)	
				vor	nach	vor	nach
1	(1928) 26/ 9	3000	4,5	15,2	16,8	2,184	2,095
	12/11	2800	4,2	15,2	17,0	2,110	3,580
	6/11	2500	2,6	15,9	17,0	2,826	2,921
3	29/ 9	2400	3,6	14,8	16,8	4,624	4,872
	11/11	2300	3,5	11,1	11,5	4,607	5,082
4	4/10	3600	5,4	13,0	14,4	2,400	2,926
	29/10	3300	3,3	14,0	15,2	3,182	3,206
5	10/10	2500	3,7	12,6	14,3		
	31/10	2300	2,3	14,0	14,7	2,921	3,087
Durchschnittswert				13,97	15,3	3,107	3,470
1	26/11	2480		15,8	15,6	3,683	3,690
2	18/11	2300		15,5	15,9		
	26/11	2400		13,3	13,3	3,767	3,700
	5/12	2380		14,0	14,2	3,206	3,301
3	21/11	2400		17,8	16,6		
	3/12	2500		16,2	15,8	3,618	3,443
4	18/12	3140		14,2	14,6		
	3/12	2880		15,4	15,4	3,315	2,931
5	21/11	2450		17,2	16,9	4,448	4,410
	5/12	2340		15,4	15,7	2,537	2,500
Durchschnittswert				15,48	15,46	3,51	3,425

Gallensäure im Blut der Kalkspiegel stark verändert wird. Darüber ist eine Untersuchung im Gange.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Die Zufuhr von Cholsäure führt zu einer Verminderung der Wasserausscheidung im Harn, kann aber nicht die Kochsalzausfuhr beeinflussen.

2. Der Eiweissstoffwechsel wird durch Zufuhr von Cholsäure gehemmt, indem dadurch die Gesamtstickstoffausscheidung mit der Schwefelsäureausscheidung im Harn parallel herabgesetzt wird.

3. Bei Zufuhr von Cholsäure vermehrt sich die Phosphorsäureausscheidung im Harn, wie es von Karasawa und Hatakeyama bewiesen wurde.

4. Die Erdalkalien, bzw. das Calcium sowohl im Harn wie auch im Blut zeigen bei Zufuhr von Cholsäure eine starke Vermehrung. Daraus ersieht man, dass die Gallensäure gegen das hypocalcämisch wirkende Adrenalin antagonistisch wirkt.

5. Unter den Alkalien im Harn wird die Natriumausscheidung nicht besonders verändert, wie es auch bei der Chlorausscheidung der Fall ist. Das Kalium zeigt keine merkbare Veränderung, doch neigt es zu einer verminderten Ausscheidung.

LITERATUR.

- Bayer, G. (1908): *Bioch. Zeitsch.*, **13**, 215.
McCrudden (1901): *Journ. of biol. Chem.*, **7**, 82.
Ellinger, P. (1921): *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, **90**, 77.
Folin, O. (1906): *Journ. of biol. Chem.*, **1**, 131.
Hatakeyama, T. (1927): *The Journ. of Bioch.*, **8**, 261.
Hoppe-Seyler u. Tierfelder: *Handbuch d. physiol. patholog. chem. Analyse*. Aufl. 1924, 655.
Inouye, T. (1922): *Tokyo Igakkai Zasshi*, **36**, 99.
Jost, W. (1914): *Zeitsch. f. Biolog.*, **64**, 441.
Jungmann, P. u. Meyer, E. (1913): *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, **73**, 49.
Karasawa, R. (1926): *The Journ. of Bioch.*, **6**, 139.
„ (1927): „ **7**, 145.

- Kaziro, K. (1927): The Journ. of Biol. Chem., **7**, 293.
Kitayama, K. (1927): Okayama Igakkai Zasshi, **444**, 18.
Kylin, E. u. Nyström, G. (1925): Zeitsch. f. gesamt. exp. Med., **45**, 208.
Misaki, K. (1927): The Journ. of Bioch., **8**, 235.
Mozai, A.; Inada, T.; Kawashima, S. u. Akiya, M. (1925): Tokyo Igakkai Zasshi, **39**, 1909.
Mozai, A. u. Kawashima, S. (1925-26): Nippon Naikagakkai Zasshi, **13**, 271.
Murakami, K. (1928): The Journ. of Bioch., **9**, 261.
„ (1928): Okayama Igakkai Zasshi, **459**, 771.
Neumann, A. (1902-05): Zeits. f. physiol. Chem., **37**, 129. u. **43**, 35.
Okamura, Teiji (1928): The Journ. of Bioch., **9**, 445.
„ (1928): „ „ **9**, 271.
Taku, A. (1928): The Journ. of Bioch., **9**, 299.
Zondeck, S. G. (1922): Biochem. Zeits., **132**, 362.
„ (1925): Kl. Woch., Jg. 1925, 905.

A NEW AMINO-COMPOUND IN THE JACK BEAN AND A CORRESPONDING NEW FERMENT.* (I)

By

MATSUNOSUKE KITAGAWA and TETSUO TOMIYAMA.

(*Biochemical Laboratory, Department of Agriculture,
Kyushu Imperial University.*)

(Received for publication, August 6, 1929.)

In the course of the study on the mechanism of the formation of urea in liver, a basic amino-compound which yields urea when split up by a certain liver ferment was occasionally found in Jack bean meal used as urease preparation. In the present study we ascertained that although a few properties of this compound are similar to those of arginine, its other properties and the nature of its salts proved it to be a new amino-compound giving a ninhydrin reaction, found, so far as we know, nowhere in the literature. Accordingly the ferment by which this compound is decomposed liberating urea is also a new one, differing from arginase.

Experiments.

I. THE EXISTENCE OF THIS COMPOUND IN THE JACK BEAN AND THE EXISTENCE OF THE CORRESPONDING FERMENT IN LIVER.

Pig liver extract by twice its quantity of water was first incubated at 38°C for six days in order to examine its urea formation and then heated at 50° or 80° to stop the action of its ferment. The amount of urea formed was then determined by both xanthydrol and urease methods.

A. *By the xanthydrol method:*

10 cc. of liver extract was taken immediately after incubation and analysed.

* Delivered before the annual meeting of the Agricultural Chemical Society in Japan, held on the 7th of April, 1929.

dixanthdryl urea found 0.0250 gm. or urea-N 1.71 mg.

B. By the urease method:

10 cc. of liver extract, after being heated, was added to 2 cc. of Jack bean extract by five times its quantity of water as a urease preparation and the amount of urea formed was determined as NH_3 , in the usual way, as follows:

TABLE I.

The treatment of the liver extract				Urea-N mg.	
Before the addition of urease		After the addition of urease		Found	Due to some substance in the Jack bean (found - 1.71)
Temperature	Interval	Temperature	Interval		
80°	30'	45°	2 hrs.	1.68	- 0.03
"	"	38°	19	1.65	- 0.06
50°	4 hrs.	45°	2	2.72	+ 1.01
"	"	38°	19	4.26	+ 2.55

This shows that, if the liver ferment is not completely destroyed, it acts on some substance in the Jack bean used as urease preparation to set free urea.

This fact was ascertained by the following experiment.

A mixed solution of the ferment precipitated by alcohol from the liver extract together with the substance in question, crudely isolated from the Jack bean, was completely incubated with a phosphate mixture (pH 7.0) and the urea formed was then determined by the above methods, after being heated at 90°.

A. by the xanthdryl method: dixanthdryl urea found 0.1156 gm. or urea-N 7.76 mg.

B. by the urease method: urea-N 7.43 mg. found as NH_3 .

In the liver extract incubated without the substance, 1.07 mg. urea-N was found, which is due to the liver autolysis alone.

II. SOME CHEMICAL PROPERTIES OF THE SUBSTANCE IN QUESTION AND ITS COMPARISON WITH ARGININE.

This compound, which is contained in a free state in the non-protein fraction of the Jack bean and is soluble in a 50% alcohol, was crudely precipitated as a viscous mass by absolute alcohol, was dissolved in water and fractionated into two parts by phosphotungstic acid, after being boiled in 33% H_2SO_4 for 18 hours.

Then, the above crude substance, its hydrolysate, its basic and non-basic fractions respectively were subjected to the action of the liver ferment, while at the same time the basic fraction was boiled in 50% KOH for six hours according to the method of the determination of arginine, with the following results:

TABLE II.

Substance analysed		Total-N mg	Urea-N mg. liberated by ferment	NH_3 -N mg. liberated by KOH
Corresponding to 2 gm. Jack bean meal.	Crude substance.	33.55	13.15	—
	Its hydrolysate, humin free.	30.69	11.44	—
	Its basic fraction, NH_3 free.	22.50	10.23	3.25
	Its non basic fraction.	5.39	0	—

This shows that this compound is almost not decomposed by boiling mineral acid, is precipitated by phosphotungstic acid and liberates almost half of its total nitrogen as urea split by ferment just as in the case of arginine by arginase, while by boiling KOH, only 14% of its total nitrogen is set free as ammonia, differing from arginine in these respects.

The basic fraction was then fractionated by the Kossel and Kutscher silver baryta method and treated as in the above experiment, with results as follows:

TABLE III.

Fraction isolated	Total-N mg.	Urea-N mg. liberated by ferment	NH ₃ -N mg. liberated by KOH
Purin fraction	0	—	—
Histidine „	2.48	0.55	—
Arginine „	19.31	10.89	3.58
Lysine „	0	—	—

This compound comes into the arginine fraction, which is found to consist almost entirely of this compound, mixed with a little arginine.

III. SOME SALTS OF THIS COMPOUND AND ITS MOLECULAR FORMULA.

In the following salts we isolated this compound entirely from the basic fraction of the Jack bean extract.

A. Copper salt:

In every case we first isolated this compound as flavianate for the reason described in *C* and then converted it into other salts.

This salt is very soluble in water, and also soluble in 75% alcohol. It is a fine needle-shaped crystal, coming together in a silky lustrous, flat colony as in Fig. 1. As is well known, arginine does not form a copper salt, but forms a copper sulphate double salt.

Composition.				average
{ 11.60 mg. sample dried	12.21 mg. CO ₂ ,	C 28.71%	{	C 28.85%
	5.01 mg. H ₂ O,	H 4.83%		
{ 12.99 mg. „ „	13.81 mg. CO ₂ ,	C 28.99%	{	H 4.94%
	5.88 mg. H ₂ O,	H 5.06%		
{ 4.64 mg. „ „	27.0°	{ 759.5 mm. 1.115 cc.N, N 27.32%	{	N 27.26%
{ 4.95 mg. „ „	23.5°	{ 752.0 mm. 1.182 cc.N, N 27.20%	{	
{ 12.99 mg. „ „	2.52 mg. CuO,	Cu 15.50%	{	Cu 15.55%
	0.0414 gm. „ „	0.0081 gm. CuO, Cu 15.60%		

A digest of this compound did not give the nitroprussid reaction for sulphur.

Accordingly, we obtain the experimental formula; $C_{10}H_{20}O_6 N_8Cu$. Assuming this compound to be a monobasic acid, as its cryoscopic molecular weight determination is impossible, its molecular formula is considered as $C_5H_{12}O_3N_4$, supported by the consideration described in B.

B. Picrate.

This salt is more soluble in water than arginine picrate. It is a needle-shaped crystal, as in Fig. 2, it melts at $155-158^\circ C$ uncorr. (arginine picrate m.p. $206^\circ C$).

Composition.				average	
{ 0.1610gm. sample dried	{ 0.1869 gm. CO ₂ ,	C 31.66%	{ C 31.88%	{ H 3.32%	
	{ 0.0467 gm. H ₂ O,	H 3.24%			
{ 0.1463 gm. " "	{ 0.1722 gm. CO ₂ ,	C 32.10%	{ H 3.32%		
	{ 0.0445 gm. H ₂ O,	H 3.40%			
{ 5.81 mg. " "	{ 24.0°C. 758.0 mm.	{ N 21.84%	{ N 21.82%		
	{ 1.107 cc. N,				
{ 5.20 mg. " "	{ 24.5°C. 758.0 mm.	{ N 21.79%			
	{ 0.990 cc. N,				

In the picrate the ratio of base-N to picric acid-N was found to be 4:6.

Consequently this compound is recognized as a diacidic base. Hence the experimental formula $C_{1.7}H_{2.1}O_{1.7}N_{1.0}$ or the molecular formula $C_5H_{12}O_3N_4 \cdot 2C_6H_3O_7N_3$ is obtained.

The hydrogen value of this compound, which can not be more definitely determined by chemical analysis alone, will be shown definitely in a future study of the structural formula. Meanwhile we propose $C_5H_{12}O_3N_4$ as the most probable molecular formula of this compound.

C. Flavianate.

This salt is a fine needle-shaped crystal, as in Fig. 3; it melts at 135° (uncorr.), and decomposes between $190-210^\circ$ (arginine flavianate changes black at 210° without melting), and is easily

soluble in water (arginine flavianate is very slightly soluble in water as described by Kossel and Gross).

Taking advantage of this property, we always used flavianic acid to isolate this compound from crude basic mixtures.

Composition.

The samples used for the following analysis were isolated respectively by more or less different methods on purpose to verify the unity of the flavianate.

{ 0.0340 gm. sample dried	4.73 mg. N,	N 13.91%	} average N 13.88%
{ 0.0634 gm. " "	8.78 mg. N,	N 13.84%	
{ 0.0527 gm. " "	7.22 mg. N,	N 13.77%	
{ 0.1535 gm. " "	0.0123 gm. S,	S 8.01%	} S 8.01%
{ 0.1099 gm. " "	0.0088 gm. S,	S 8.01%	

The ratio of base-N to flavianic acid-N in the flavianate was found to be 18.78 mg N: 19.50 mg. N in 0.2767 gm flavianate, or 1:1.

Therefore, assuming this base to be a diacidic base like the pterate, the molecular formula of the flavianate is considered to be $C_5H_{12}O_3N_4 \cdot 2C_{10}H_6O_8N_2S$, if the molecular formula of this compound is supposed $C_5H_{12}O_3N_4$.

$$\text{cal. for } C_5H_{12}O_3N_4 \cdot 2C_{10}H_6O_8N_2S, \quad \left\{ \begin{array}{l} N \ 13.90\% \\ S \ 7.97\% \end{array} \right.$$

When the free base obtained from the flavianate was subjected to the actions (1) of liver ferment and (2) of boiling KOH, 51% of its total nitrogen was liberated as urea by the former and 21% of its total nitrogen as ammonia by the latter.

D. Copper sulphate double salt.

This is easily converted from copper salt in the presence of sulphuric acid. It is a needle-shaped crystal, as in Fig. 4, very soluble in water, but insoluble in 75% alcohol, differing in these respects from the copper salt.

Composition.

4.82 mg. sample dried	759 mm. 26.0° 0.902 cc. N,	N 21.3%	} 21.25%
5.04 mg. " "	754 mm. 25.0° 0.941 cc. N,	N 21.2%	

calc. for $(C_5H_{12}O_3N_4)_2CuSO_4$, N 21.90%.

The free base is alkaline to litmus in water solution, which becomes slightly acidic on adding neutralised formaldehyde, is almost insoluble in alcohol, does not reduce ammonical $AgNO_3$, and gives the following colour reactions.

Biuret reaction	}	negative
Sakaguchi's reaction		
Carbonyl reaction		
Diazo reaction		
Ninhydrin reactionintense positive	

About 55% of total nitrogen of this compound is determined as amino-nitrogen by the Van Slyke method.

From the foregoing there is no doubt but that this compound is a new amino-derivative of carboxylic acid, differing from arginine.

CONCLUSION.

We have isolated a new basic amino-compound from the Jack bean, which gives ninhydrin reaction and has the molecular formula; $C_5H_{12}O_3N_4$.

Half of its total nitrogen is liberated from this compound as urea by a new ferment in liver, also found by us.

LITERATURE.

Sakaguchi, S. (1925): Jour. Biochem., 5, 133.

[Kitagawa and Tomiyama]

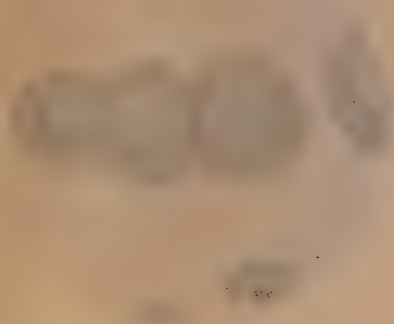


Fig. 1 $\times 14$

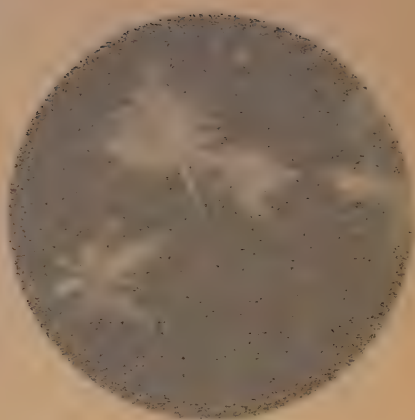


Fig. 2 $\times 47$

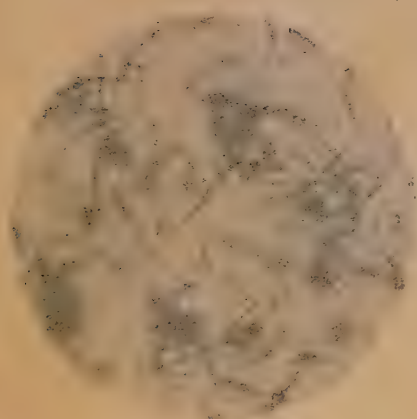


Fig. 3 $\times 14$

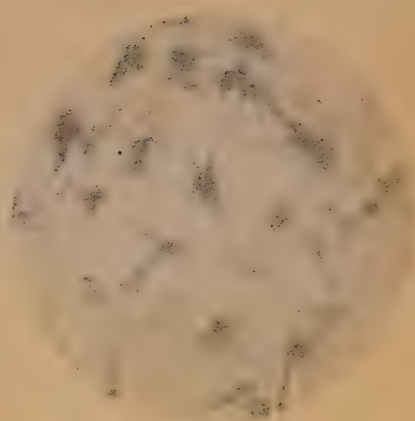


Fig. 4 $\times 47$

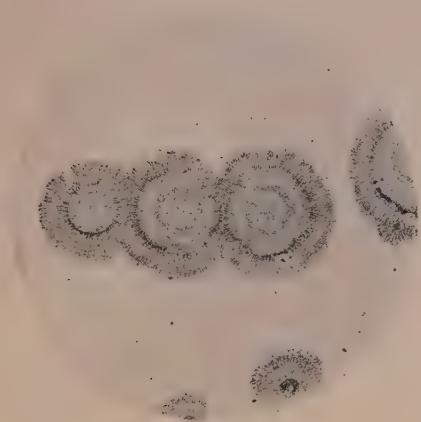


Fig. 1 $\times 14$

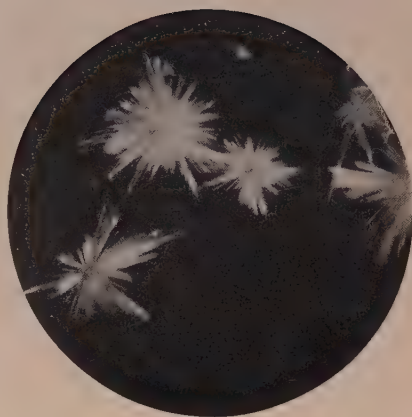


Fig. 2 $\times 47$

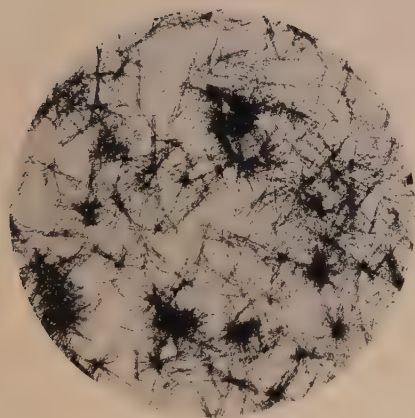


Fig. 3 $\times 60$

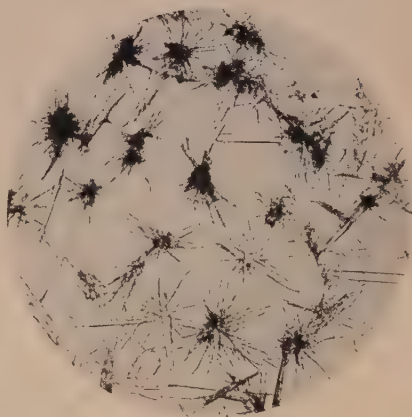


Fig. 4 $\times 175$

BEDEUTUNG DER GALLENSÄURE IM KOHLE- HYDRATSTOFFWECHSEL VII.

Der Gaswechsel des Kaninchens bei Zufuhr von Gallensäuren.

VON

TAKUICHI HATAKEYAMA.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Okayama.

Vorstand: Prof. Dr. T. Shimizu.)

(Eingegangen am 1. September 1929.)

Im Jahre 1927 wurde in hiesigem Institut von Misaki beobachtet, dass die Zufuhr von Gallensäure sowohl den nüchternen Blutzucker als auch die durch Zufuhr von Traubenzucker erzeugte Hyperglykämie herabsetzt. Dabei hat Misaki weiter bewiesen, dass die durch Adrenalin erzeugte Hyperglykämie durch die Zufuhr von Gallensäure herabgesetzt und die Adrenalinsekretion der Nebenniere dadurch gehemmt wird. Daraus hat er den Schluss gezogen, dass die Gallensäure im Kohlehydratstoffwechsel des Organismus gegen das Adrenalin antagonistisch wirkt. Auf Grund dieser Befunde wurde der Glykogengehalt der Leber und des Muskels unter Zufuhr von Gallensäuren untersucht und gefunden, dass sich dabei das Glykogen in der Leber und im Muskel im allgemeinen vermehrt.

Diese antagonistische Wirkung der Gallensäure gegen Adrenalin wurde von vielen Autoren wie Taku (1928), Murakami (1928), Okamura (1928) unter verschiedenen Bedingungen untersucht und gefunden, dass der überschüssige Gehalt des Organismus an Gallensäuren eine Verminderung der Adrenalinsekretion der Nebenniere herbeiführt, indem der Blutzuckerspiegel durch die Gallensäure herabgesetzt wird. Andererseits wird die Adrenalinsekretion der Nebenniere gesteigert, wenn der Gehalt der Gallensäure im Organismus sich vermindert, indem der Zuckergehalt des Blutes durch vermehrtes Adrenalin gesteigert wird. Murakami hat weiter experimentell bewiesen, dass sich diese

antagonistische Wirkung der Gallensäure gegen Adrenalin nicht nur im Zuckerspiegel, sondern auch im Blutdruck zeigt.

Auf Grund dieser Befunde ergab sich die weitere Fragestellung, ob ein Antagonist des Adrenalins nicht nur in dem Sinne einer Förderung der Fettbildung aus Kohlehydraten eine der Adrenalinwirkung entgegengesetzte Wirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel ausübt, so dass er den Blutzucker herabsetzt, sondern ober auch in der Weise wirken kann, dass die Gallensäure imstande ist, die Glykogenbildung zu fördern.

Den Übergang von Kohlehydraten in Fett erkennen wir indirekt an der Hand von Respirationsversuchen. Da bei der Fettbildung aus Kohlehydraten ein sauerstoffreicher Körper in einen sauerstoffarmen übergeht, spart der Organismus Sauerstoff, ein Vorgang, der sich im Gaswechsel bekanntlich dadurch zu erkennen gibt, dass der respiratorische Quotient den Wert 1 überschreitet. Der Ausgangswert des respiratorischen Quotienten spielt bei Versuchen über die Kohlehydratverwertung im Organismus keine Rolle.

Ob wirklich ein absoluter Antagonismus zwischen Adrenalin und Gallensäure besteht, wie es bei Insulin und Adrenalin der Fall ist (Lublin, 1927), scheint mir aber fraglich, weil die Gallensäure bei pankreaslosen Hunden nicht hypoglykämisch wirkt, wie Misaki mit seinem Versuch bewiesen hat.

Aus Vorstehendem ist die Förderung der Fettbildung aus Kohlehydrat unwahrscheinlich, dann auch weil die hypoglykämische Wirkung der Gallensäure durch Ausschaltung der N. splanchnici aufgehoben wird, wie Tsuji, K. (1929) in seinem Versuch bewiesen hat.

Aus diesem Grunde lässt sich die Gallensäurewirkung auf den Blutzucker als Sympathicushemmung erklären.

Es ist schon bekannt, dass der Zuckerstich hauptsächlich unter Vermittelung der N. splanchnici durch Adrenalinausschüttelung aus der Nebenniere bewirkt wird und dadurch den Blutzucker vermehrt.

Daher ist wohl anzunehmen, dass die Zufuhr von Gallensäure einerseits unter Verminderung der Adrenalinsekretion der Nebenniere sekundär den Glykogenschwund in der Leber und im Muskel verhindert, anderseits eine Ablagerung von Glykogen im Organismus herbeiführt, weil die Gallensäure die Mutarotation der Glukose fördert und mit der Glukose kondensiert (1928), sogar die Zufuhr derselben das Glykogen in Leber und Muskel im allgemeinen vermehrt.

Unter dieser Voraussetzung ist es möglich, dass durch Verminderung des Adrenalins, das das Glykogen mobilisiert, und durch Polymerisierung des Zuckers die Zuckerverbrennung im Organismus gehemmt wird, indem sich der Zuckergehalt im Organismus im allgemeinen vermindert.

Es ist bei vielen Autoren strittig, ob das Adrenalin auf die Zuckerverbrennung im Organismus günstig oder hemmend wirkt. Bei allen Untersuchern, wie A. T. Tsuchtschenko (1908), A. V. Gradinescu (1913), L. Ascher (1928), R. Gantenberg (1927) herrscht darüber Übereinstimmung, dass bei Adrenalin-gabe der respiratorische Quotient unverändert bleibt oder etwas gesteigert wird.

Im oben erwähnten Sinne habe ich das Thema ausfenommen, um einerseits die antagonistische Wirkung zwischen Gallensäure und Adrenalin zu erklären, anderseits den hypoglykämischen Wirkungsmechanismus der Gallensäure klarzustellen.

Experimenteller Teil.

Bei Versuchen über Gaswechsel muss man verschiedene Faktoren sorgfältig berücksichtigen, die den Gaswechsel beeinflussen. Zum diesem Zweck habe ich die den Gaswechsel beeinflussenden Faktoren untersucht und nach dem neuen Verfahren von H. Ogata (1923) gearbeitet.

Zum Versuch habe ich Kaninchen verwendet, die vorher etwa 12–15 Stunden nüchtern gehalten worden waren. Beim Versuche wurden die Kaninchen in Rückenlage fixiert und Körperanstren-

gung derselben bei der Injektion u.s.w. möglichst vermieden. Im Laufe von 1.5 bis 2 Stunden nach der Fixierung verhielten sich die Kaninchen meist ruhig, und dann erst wurde der Versuch vorgenommen, indem die Kaninchen mittels des Maulglases mit dem Gassack verbunden wurden. Alle Verbindungen wurden mit dickwandigem Gummischlauch und Paraffin so dicht hergestellt, dass Glas auf Glas stiess.

Die Dauer des Versuchs war gewöhnlich 3 bis 5 Minuten. Die Gasanalyse wurde mittels des Haldeneschen Apparates ausgeführt.

1. EINFLUSS DER GALLENSÄUREZUFUHR AUF DEN GASWECHSEL DES NÜCHTERNEN KANINCHENS.

Beim Versuche mit nüchternen Kaninchen erfolgte die subcutane Zufuhr von cholsaurem oder desoxycholsaurem Natrium erst nach Feststellung des Ausgangswertes der respiratorischen Quotienten.

Verwendet wurde eine 1%ige Lösung, von der 1 ccm pro Kg. Körpergewicht appliziert wurde. In bestimmten Zeitintervallen (1 Stunde) wurde dann der Verlauf der respiratorischen Quotienten verfolgt.

Dabei zeigte sich in je 5 Versuchen bei Cholsäure und bei Desoxycholsäure allemal ohne Ausnahme ein deutliches Absinken der respiratorischen Quotienten. Aus der Tabelle I. und II. ist ersichtlich, dass der Abfall des respiratorischen Quotienten im allgemeinen in der 1. bis 2. Stunde nach der Injektion der Gallensäurelösung auftritt und in 3–5 Stunden nach der Injektion zu dem Ausgangswerte zurückkehrt.

Der Grad des Absinkens ist je nach der Menge und der Art der Gallensäure ganz verschieden.

TABELLE I. Versuch mit Cholsäure.

Stund.	Zahl der Atem- züge pro Min.	Atem- grösse pro Min. ccm	CO ₂ ccm		O ₂ ccm		R.Q.	Bemerk.
			pro Min.	pro Kilo. u. St.	pro Min.	pro Kilo. u. St.		
1) Körpergewicht 2570 g. 12°C 762 mm Hg.								
2	32	645	17.73	414.00	17.88	417.50	0.99	← Cholsäure 2.6 ccm injiziert
3	30	440	12.09	282.30	14.63	341.61	0.83	
4	31	490	13.27	309.85	16.48	334.8	0.81	
5	33	585	13.26	309.26	15.66	365.66	0.85	
6	34	590	16.10	375.94	17.01	397.18	0.95	
2) Körpergewicht 2420 g. 14°C 761 mm Hg.								
2	37	665	16.26	403.09	21.10	523.07	0.77	← Cholsäure 2.5 ccm injiziert
3	35	560	12.09	299.61	14.63	362.68	0.82	
4	37	510	14.00	347.06	19.99	495.55	0.70	
5	38	600	13.12	325.24	14.90	369.37	0.88	
6	39	610	17.31	429.11	17.04	422.42	1.02	
3) Körpergewicht 2590 g. 15°C 760.6 mm Hg.								
2	32	655	17.91	414.97	20.84	482.86	0.86	← Cholsäure 2.6 ccm injiziert
3	33	655	16.81	389.49	20.32	470.81	0.82	
4	33	685	17.72	410.57	21.40	495.84	0.83	
5	36	750	20.26	469.42	22.99	532.68	0.88	
6	38	800	22.37	518.31	24.26	562.10	0.91	
4) Körpergewicht 1910 g. 15.5°C 762 mm Hg.								
2	88	755	13.12	412.10	17.03	534.91	0.77	← Cholsäure 2 ccm injiziert
3	82	765	16.22	509.47	17.20	540.25	0.94	
4	78	735	17.55	551.25	21.02	660.24	0.83	
5	74	700	18.30	574.80	23.45	736.56	0.78	
6	75	710	16.77	526.75	17.67	555.01	0.95	
5) Körpergewicht 2270 g. 16°C 763 mm Hg.								
2	38	595	13.98	369.49	14.84	392.22	0.94	← Cholsäure 2.3 ccm injiziert
3	39	650	17.18	454.07	17.48	462.00	0.98	
4	35	615	15.28	403.85	22.56	596.26	0.68	
5	35	690	14.20	375.31	15.05	397.77	0.94	
6	39	635	17.01	449.57	17.64	466.23	0.96	

TABELLE II. Versuch mit Desoxycholsäure.

Stund.	Zahl der Atem- züge pro Min.	Atem- grösse pro Min. ccm	CO ₂ ccm		O ₂ ccm		R.Q.	Bemerk.
			pro Min.	pro Kilo. u. St.	pro Min.	pro Kilo. u. St.		
1) Körpergewicht 2450 g. 15.6°C 763 mm Hg.								
2	34	635	20.19	494.55	20.88	511.35	0.97	Desoxy- cholsäure 2.5 ccm injiziert
3	31	640	20.79	509.15	20.81	509.64	1.00	
4	34	500	16.26	398.21	17.55	429.80	0.93	
5	36	575	17.84	436.90	20.99	514.05	0.85	
6	31	580	20.75	508.17	21.46	535.46	0.97	
7	33	615	20.09	492.00	20.40	499.60	0.98	
2) Körpergewicht 2650 g. 15°C 763 mm Hg.								
2	66	690	17.13	387.82	19.11	432.65	0.90	Deso. 2.7 ccm injiziert
3	62	680	20.43	462.54	20.76	470.01	0.98	
4	61	650	16.94	383.52	19.42	439.67	0.87	
5	62	700	17.56	397.56	19.20	434.69	0.91	
6	53	720	20.91	473.40	21.82	494.00	0.96	
7	53	740	20.92	473.62	21.78	493.10	0.96	
8	51	700	20.14	455.97	20.67	467.97	0.97	
3) Körpergewicht 2500 g. 26°C 762 mm Hg.								
2	90	880	19.00	456.00	20.78	498.72	0.91	Deso. 5 ccm Glukose
3	88	890	16.23	389.52	23.11	554.64	0.70	
4	85	730	14.91	357.84	18.66	447.84	0.80	
5	85	680	15.57	373.68	18.86	452.64	0.83	
6	84	700	13.84	332.16	17.04	408.96	0.81	
4) Körpergewicht 2650 g. 26.5°C 763 mm Hg.								
2	55	790	17.40	393.94	22.80	516.19	0.76	Deso. 5.0 ccm injiziert
3	45	700	14.99	339.37	21.43	485.18	0.70	
4	41	720	17.07	386.45	22.65	512.40	0.75	
5	43	770	17.44	394.84	21.63	489.70	0.80	
5) Körpergewicht 2400 g. 20°C 761 mm Hg.								
2	41	580	12.60	315.00	14.54	363.50	0.87	Deso. 5.0 ccm injiziert
3	40	560	17.49	437.25	21.09	527.25	0.88	
4	41	600	16.29	407.25	22.99	564.75	0.71	
5	42	520	18.13	453.25	21.85	546.25	0.81	

2. EINFLUSS DER GALLENSÄUREZUFUHR AUF DEN GASWECHSEL BEI EXPERIMENTELLER HYPERGLYKÄMIE.

Bei den Versuchen, bei welchen der Einfluss der Gallensäuren auf die experimentelle Hyperglykämie geprüft wurde, wurde zuerst als Kontrolle dem Kaninchen 5 ccm einer 20%igen Glukoselösung intravenös injiziert. Nach 30 Minuten stieg der respiratorische Quotient merklich und weiterhin noch mehr an, um nach etwa 4-5 Stunden in allen Fällen auf den Ausgangswert abzufallen. (s. Tabelle III.)

Der eigentliche Versuch wurde in der Weise vorgenommen, dass zunächst der Ausgangswert des respiratorischen Quotienten bestimmt, dann 5 ccm einer 20%igen Glukoselösung gleichzeitig mit 1-2 ccm einer 1%igen Cholatlösung oder Desoxycholatlösung pro Kg. Körpergewicht intravenös injiziert wurden.

Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen IV und V zusammengestellt.

Aus den Tabellen sieht man, dass der Grad des Einflusses der Gallensäure auf den respiratorischen Quotient je nach ihrer Menge und Art etwas verschieden ist.

Bei Zufuhr von 1 ccm einer 1%igen Cholatlösung pro Kg. Körpergewicht bleibt der respiratorische Quotient unbeeinflusst oder sinkt etwas herab, aber bei Zufuhr von 2 ccm derselben Lösung pro Kg. Körpergewicht sinkt er ohne Ausnahme herab.

Bei Versuchen mit Desoxycholsäure tritt der Abfall des respiratorischen Quotienten unabhängig von der Menge Desoxycholsäure auf und zwar in $\frac{1}{2}$ -1 Stunde nach der Injektion von Desoxycholsäure.

TABELLE III. Kontrolle.

Stund.	Zahl der Atem- züge pro Min.	Atem- grösse pro Min. ccm	CO ₂ ccm		O ₂ ccm		R.Q.	Bemerk.
			pro Min.	pro Kilo. u. St.	pro Min.	pro Kilo. u. St.		
1) Körpergewicht 2050 g. 19°C 762 mm Hg.								
2	37	580	13.17	385.49	17.65	516.62	0.75	Glukose ← 5 ccm intravenös injiziert
3	32	530	14.85	435.54	17.65	516.62	0.84	
4	33	600	18.12	530.37	19.06	557.89	0.95	
5	32	570	17.94	525.10	18.25	534.18	0.98	
6	30	550	14.96	437.88	15.61	456.90	0.96	
7	31	560	14.89	435.82	16.06	470.08	0.93	
2) Körpergewicht 2650 g. 20°C 763 mm Hg.								
2	62	600	14.90	337.34	19.47	440.80	0.77	Glukose ← 5 ccm intravenös injiziert
3	60	600	16.30	369.03	20.50	464.12	0.80	
4	61	720	18.28	413.86	17.13	387.82	1.07	
5	64	680	19.87	449.89	19.80	448.27	1.00	
6	60	700	19.70	446.01	21.17	479.29	0.93	
7	61	740	20.07	454.38	23.90	541.10	0.84	
3) Körpergewicht 2250 g. 19°C 763 mm Hg.								
2	44	560	17.84	475.79	20.76	553.67	0.86	Glukose ← 5 ccm intravenös injiziert
3	43	550	17.15	457.39	20.16	537.67	0.85	
4	52	600	20.10	536.07	23.30	621.41	0.86	
5	46	600	22.04	587.81	22.41	597.67	0.98	
6	43	570	20.87	557.60	21.94	584.14	0.95	
7	44	580	17.80	474.73	21.42	571.27	0.83	
4) Körpergewicht 2700 g. 20°C 762 mm Hg.								
2	48	690	18.64	414.18	20.38	452.84	0.91	Glukose ← 5 ccm intravenös injiziert
3	51	790	20.62	458.18	20.53	456.18	1.00	
4	50	830	22.55	501.00	23.66	525.73	0.95	
5	52	900	24.37	541.50	25.19	569.72	0.97	
6	52	950	23.59	524.17	26.31	584.61	0.90	
5) Körpergewicht 2650 g. 21°C 761 mm Hg.								
2	53	800	23.16	524.34	23.80	538.83	0.97	Glukose ← 5 ccm intravenös injiziert
3	52	840	24.13	546.30	23.24	526.15	1.04	
4	55	900	25.42	575.51	25.01	566.23	1.01	
5	54	960	23.77	538.15	28.16	637.54	0.84	

TABELLE IV. Versuch mit Cholsäure.

Stund.	Zahl der Atem- züge pro Min.	Atem- grösse pro Min. ccm	CO ₂ ccm		O ₂ ccm		R.Q.	Bemerk.
			pro Min.	pro Kilo. u. St.	pro Min.	pro Kilo. u. St.		
1) Körpergewicht 2270 g. 20°C 761 mm Hg.								
2	77	820	19,36	511,68	23,70	626,39	0,82	Glukose 5 ccm Cholsäure 2,3 ccm injiziert
2,5	52	690	19,38	512,21	24,17	638,81	0,80	
3,5	62	740	20,13	532,14	23,45	616,78	0,86	
4,5	55	740	19,36	511,68	19,95	527,28	0,97	
5,5	55	745	20,11	531,50	21,93	579,61	0,91	
6,5	54	730	18,33	479,18	21,85	577,50	0,83	
2) Körpergewicht 2600 g. 19°C 762 mm Hg.								
2	53	600	20,64	476,37	21,49	495,99	0,96	Glukose 5 ccm Cholsäure 2,6 ccm injiziert
2,5	59	730	20,68	477,29	22,02	508,22	0,94	
3,5	52	820	25,88	597,31	26,43	610,00	0,98	
4,5	47	670	21,94	506,38	22,89	528,30	0,96	
5,5	52	600	14,72	339,74	19,38	447,29	0,76	
6,5	53	650	20,47	482,45	21,70	500,84	0,94	
3) Körpergewicht 2400 g. 22°C 763 mm Hg.								
2	39	550	19,97	499,25	23,34	583,50	0,86	Glukose 5 ccm Cholsäure 5 ccm injiziert
2,5	34	600	18,90	472,50	23,65	591,25	0,80	
3,5	32	570	18,00	450,00	23,32	583,00	0,77	
4,5	34	620	20,28	507,00	24,08	602,00	0,84	
5,5	35	650	22,04	561,00	24,33	608,25	0,91	
4) Körpergewicht 2700 g. 22°C 763 mm Hg.								
2	47	780	20,85	463,29	22,01	489,06	0,95	Glukose 5 ccm Cholsäure 5,5 ccm injiziert
2,5	42	930	26,46	587,94	29,49	655,27	0,83	
3,5	45	710	19,19	426,40	21,99	488,62	0,87	
4,5	44	650	21,42	475,95	22,70	504,39	0,95	
5,5	43	590	20,11	446,84	21,93	487,28	0,91	
5) Körpergewicht 2250 g. 22°C 763 mm Hg.								
2	33	500	19,04	507,61	19,70	525,20	0,97	Glukose 5 ccm Cholsäure 4,5 ccm injiziert
2,5	36	610	19,11	509,47	19,82	528,40	0,97	
3,5	51	630	20,47	545,73	22,94	611,58	0,89	
4,5	41	600	19,73	526,00	21,65	576,99	0,91	
5,5	42	600	20,87	556,39	22,63	603,32	0,92	
6,5	45	610	21,41	570,79	19,70	525,20	1,09	

TABELLE V. Versuch mit Desoxycholsäure.

Stund.	Zahl der Atem- züge pro Min.	Atem- grösse pro Min. ccm	CO ₂ ccm		O ₂ ccm		R.Q.	Bemerk.
			pro Min.	pro Kilo. u. St.	pro Min.	pro Kilo. u. St.		
1) Körpergewicht 2550 g. 25°C 763 mm Hg.								
2	74	730	17.20	404.72	20.58	484.45	0.84	Glukose
2.5	70	740	13.57	319.30	18.39	432.62	0.74	← 5 ccm
3.5	72	760	14.74	346.83	19.86	467.31	0.74	Deso.
4.5	70	730	14.06	330.83	17.63	414.83	0.80	xycholsre
5.5	75	720		verloren				2.6 ccm injiziert
2) Körpergewicht 2600 g. 26°C 762.5 mm Hg.								
2	60	820	17.61	406.44	22.79	525.99	0.77	Glukose
2.5	55	720	14.02	323.58	21.55	497.37	0.65	← 5 ccm
3.5	48	660	14.96	345.28	19.15	441.98	0.78	Deso.
4.5	52	670	17.43	402.28	22.53	519.99	0.77	2.6 ccm
5.5	48	770	18.24	430.88	23.51	542.61	0.78	injiziert
3) Körpergewicht 2270 g. 25.5°C 762.5 mm Hg.								
2	45	630	15.59	412.04	19.23	508.35	0.81	Glukose
2.5	42	520	11.23	296.81	14.51	383.50	0.77	← 5 ccm
3.5	42	530	14.24	376.36	19.03	502.96	0.75	Deso.
4.5	40	710	16.91	446.93	21.39	565.34	0.79	4.5 ccm
5.5	42	510	12.64	334.08	15.46	408.61	0.82	injiziert
4) Körpergewicht 2250 g. 24°C 762 mm Hg.								
2	48	560	13.95	371.91	17.05	454.55	0.82	Glukose
2.5	45	650	13.37	356.44	17.57	466.82	0.76	← 5 ccm
3.5	42	630	14.24	379.64	17.95	478.55	0.79	Deso.
4.5	43	660	13.61	362.84	16.87	449.75	0.81	4.5 ccm
5.5	50	740	17.61	469.48	21.85	582.52	0.81	injiziert
5) Körpergewicht 2800 g. 23°C 763 mm Hg.								
2	47	990	21.48	460.32	26.80	574.32	0.80	Glukose
2.5	55	1000	18.22	390.45	27.28	584.61	0.67	← 5 ccm
3.5	51	1000	19.44	416.60	25.85	553.97	0.75	Deso.
4.5	52	1030	22.20	475.75	29.14	624.47	0.77	5.6 ccm
5.5	50	1000	21.68	464.80	29.52	632.61	0.73	injiziert

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Die Zufuhr von Gallensäure (Cholsäure, Desoxycholsäure) setzt nicht nur den respiratorischen Quotienten der nüchternen, sondern auch den der experimentell hyperglykämischen Kaninchen herab.

2. Aus den Daten scheint mir hervorzugehen, dass die Gallensäure einerseits den Prozess der Polymerisierung des Traubenzuckers im Organismus beschleunigt, anderseits im Sinne der Sympathicuslähmung die Zuckerverbrennung hemmt, indem die Adrenalinsekretion der Nebenniere durch Sympathicuslähmung vermindert wird.

LITERATUR:

- Ascher, L. (1928): Biochem. Z., **201**, 148.
Gradinescu, A. V. (1913): Arch. f. exper. Path. und Pharm., **152**, 197.
Gantenberg, R. (1927): Arch. f. exper. Path. und Pharm., **123**, 187.
Hatakeyama, T. (1928): Journ. of Biochem., **8**, 371.
Lublin (1927): Arch. f. exper. Path. und Pharm., **125**, 229.
Misaki, K. (1927): Journ. of Biochem., **8**, 235.
Murakami, K. (1927): „ „ **9**, 261.
Murakami, K. (1928): Okayama-Igakkai-Zasshi, **40**, 459-771.
Okamura, T. (1928): Journ. of Biochem., **9**, 271.
„ „ „ **9**, 445.
Ogata, H. (1923): The Journal of biophysics, **1**, 1.
Taku, A. (1928): Journ. of Biochem., **9**, 299.
Tsuji, K. (1929): noch nicht veröffentlicht.
Tuschtschenko, A. T. (1908): Biochem. Z., **15**, 365.

KREATININAUSSCHIEDUNG BEI EXPERIMENTELLEM STAUUNGSIKTERUS.

VON

SHUNZOO OKAMURA.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Okayama
Vorstand: Prof. Dr. T. Shimizu.)

(Eingegangen am 4. September 1929.)

Die Kreatininausscheidung im Harn dürfte auf einer mit dem Muskelstoffwechsel zusammenhängenden endogenen und auf einer von der Nahrung abhängigen exogenen Ausscheidung beruhen. Es ist nach den Untersuchungen von Meyer u. Fine (1913–1914) im allgemeinen anerkannt, dass die tägliche endogene Kreatininausscheidung bei ein und demselben Individuum ausserordentlich konstant erscheint und in einem direkten Verhältnis zu dem prozentualen Kreatingehalt der Muskeln steht. Es lässt sich ohne weiteres verstehen, dass durch die nahe chemische Verwandtschaft der beiden Substanzen die Kreatininausscheidung mit der Kreatinproduktion des Muskels eng verknüpft ist.

Nach den Untersuchungen von Pekelharing und seinem Mitarbeiter (1916) ist die Kreatinproduktion des tonisch kontrahierten Muskels stärker als die des normalen Muskels. Umgekehrt fand sich nach Cathcart und seinem Schüler (1918) im Muskel, dessen Tonus durch Durchschneidung der zugehörigen Nerven oder Nervenwurzeln herabgesetzt worden war, eine Abnahme des Kreatingehaltes. Infolgedessen muss der Kreatingehalt des Muskels vom Tonus abhängen. Neuerdings haben Riesser (1916) u. Kure (1923) gefunden, dass der Kreatingehalt der Muskeln von dem sympathisch innervierten Tonus der Muskeln abhängig ist, und dass das die sympathischen Nervenapparate reizende Adrenalin gleichfalls eine Kreatinvermehrung in den Muskeln bewirkt. Kürzlich wurde durch die genauen Untersuchungen von

Tsuji (1929) im hiesigen Institut gefunden, dass die durch Zufuhr der gegen Adrenalin antagonistisch wirkenden Gallensäure erzeugte Hypoglykämie nach Durchschneidung der N. Splanchnici ganz aufgehoben wird. Demnach tritt die durch Gallensäure hervorgerufene Hypoglykämie bei Ausschaltung der Sympathicus nicht auf. Damit ist als sicher bewiesen, dass die Gallensäure auf das sympathische Nervensystem lähmend wirkt. Diese Tatsache wurde durch die Untersuchungen von Kaziro und Taku (1929) bestätigt, als sie die antagonistische Wirkung der Gallensäure gegen das Adrenalin bei der Kreatininausscheidung des Kaninchens untersuchten. Sie haben nämlich gefunden, dass sich das Kreatinin im Harn durch die Zufuhr von Gallensäure vermindert, während es sich bei Zufuhr von Adrenalin vermehrt. Es besteht kein Zweifel, dass bei Stauungsikterus die Gallensäure durch ihren Rückfluss aus der Leber mehr oder weniger im Blut enthalten ist und auf die sympathisch innervierten Organe und Gewebe irgendeinen Einfluss ausübt, obwohl wir bisher keinen zuverlässigen Beweis für die Zirkulation der Gallensäure im normalen Organismus haben.

Im oben erwähnten Sinne habe ich das Thema aufgenommen, um einerseits die Kreatininausscheidung bei Stauungsikterus kennen zu lernen, andererseits einen Einblick in die physiologische Wirkung der Gallensäure im Organismus zu gewinnen.

Experimenteller Teil.

Zur Erreichung des Stauungsikterus habe ich den Ductus Choledochus immer an zwei Stellen doppelt abgebunden. In den meisten Fällen tritt einige Tage nach der Operation die ikterische Färbung der Haut auf. Im Harn ist der Gallenfarbstoff vom ersten Tage nach der Operation bis zum Tode nachweisbar. In einigen Fällen schied das Tier am ersten Tage nach der Operation Blutfarbstoffe im Harn aus. Diese Blutfarbstoffausscheidung im Harn verschwand aber schon am zweiten Tage. Manchmal starb das Versuchstier bald nach der Operation, und ich konnte den

Versuch nicht weiter fortführen. Als Kontrolle für den Versuch habe ich ein Tier verwendet, bei welchem der Bauch geöffnet und die Gallenblase teilweise unterbunden worden war. Während der Versuche habe ich immer eine bestimmte Nahrung sowohl bei dem eigentlichen Versuchstier als auch beim Kontrolltiere verabreicht. Die Operation wurde erst nachdem die tägliche Kreatininausscheidung im Harn konstant geworden war, sowohl beim eigentlichen Versuchstier als auch beim Kontrollversuchstier ausgeführt, und dann weiter die Kreatininausscheidung bei beiden Tieren verfolgt. Die Kreatininbestimmung im Harn wurde nach dem kolorimetrischen Verfahren vorgenommen.

ERGEBNISSE.

Wie in der Einleitung erwähnt wurde, wirkt das Adrenalin im Organismus bei Kreatininausscheidung gegen die Gallensäure antagonistisch. Daher kann man wohl zu der Ansicht kommen, dass bei Stauungsikterus die überschüssige Gallensäure, die auf den sympathischen Nerv lähmend wirkt, ins Blut eintritt und sogar im Harn ausgeschieden wird. Als Folge hiervon ist wohl denkbar, dass sich der Muskeltonus infolge der durch die überschüssige Zufuhr von Gallensäure bedingten sympathischen Erregbarkeitsherabsetzung vermindern dürfte, und dass dadurch die Kreatinproduktion im Muskel verhindert würde, wodurch weiter eine Verminderung der Kreatininausscheidung im Harn bei Stauungsikterus hervorgerufen würde.

Wie aus der Tabelle I ersichtlich ist, habe ich das erwartete Ergebnis erhalten. Bei den Kontrollversuchen (Tabelle II) und bei den Versuchen 2, 3 und 7 der Tabelle I wurde der prozentuale Kreatiningehalt des Harns am ersten Tage nach der Operation vermehrt gefunden, weil sich die Harnmenge infolge der Operation stark vermindert hatte. Im Versuche 3 der Tabelle I sieht man, dass sich die Kreatininausscheidung der absoluten Menge nach vermindert, prozentual dagegen vermehrt. In den meisten Fällen zeigt sich bei stauungsikterischen Kaninchen prozentual und

Versuch Nr.	Datum	Körper- gewicht	Harnmenge	Spez. Gewicht	Reaktion	Kreatinin	
		g	ccm			mg.	%mg.
1	12/VI	2395	118	1021	alkalisch	81,00	68,6
	13	2410	127	1019	"	93,74	73,8
	14	2430	126	1020	"	92,22	73,2
	15	2430	121	"	"	96,22	79,5
	16	2460	126	"	"	91,06	72,2
	17	2480	117	"	"	89,60	76,6
	nach d. Operation						
	18	2450	105	1022	"	53,74	51,2
	19	2420	43	1028	"	1,80	4,2
2	17/VI	2105	185	1016	alkalisch	90,74	49,0
	18	2100	128	1020	"	91,47	71,5
	19	2120	109	1021	"	89,30	82,9
	20	2120	112	1022	"	90,74	81,0
	21	2140	105	1023	"	93,74	89,3
	22	2125	90	1021	"	79,32	88,1
	nach d. Operation						
	23	2160	57	1031	"	76,62	134,4
	24	2150	87	1028	"	50,90	58,5
	25	2100	115	1021	"	56,70	49,3
	26	1990	158	1018	"	3,24	20,5
	27	2000	99	1022	sauer	93,95	94,8
3	23/VI	1910	130	1020	alkalisch	78,74	60,6
	24	1920	124	1019	"	74,70	60,2
	25	1940	121	1020	"	76,22	63,0
	26	1960	115	1021	"	76,68	66,7
	27	1960	122	1020	"	77,18	63,3
	nach d. Operation						
	28	2010	48	1030	sauer	50,18	104,5
	29	1980	48	1031	alkalisch	39,38	82,0
4	4/VII	2480	162	1015	alkalisch	94,46	58,3
	5	2500	135	1017	"	92,96	68,8
	6	2590	145	1015	"	96,22	66,4
	7	2540	143	1014	"	85,90	60,0
	8	2530	128	1018	"	89,38	69,8
	nach d. Operation						
	9	2480	120	1016	"	82,18	68,4
	10	2470	129	1028	"	65,16	50,5
	11	2300	120	1019	sauer	59,06	49,2

Versuch Nr.	Datum	Körper- gewicht	Harnmenge	Spez. Gewicht	Reaktion	Kreatinin	
		g	ccm			mg.	%mg.
5	14/VII	2090	105	1022	alkalisch	86,82	82,6
	15	2080	105	1021	sauer	79,46	75,6
	16	2070	97	1023	alkalisch	81,00	83,6
	17	2090	82	1025	"	81,62	99,5
	18	2120	90	1023	"	84,62	94,0
	nach d. Operation						
	19	2190	84	1031	"	60,32	71,8
	20	1970	119	1025	"	32,56	27,2
6	19/VII	1770	103	1021	alkalisch	76,62	74,4
	20	1770	106	1019	"	73,12	69,0
	21	1780	90	1020	"	72,90	81,0
	22	1770	70	1023	"	71,22	101,7
	23	1765	51	1031	"	66,70	130,8
	nach d. Operation						
	24	1720	71	1030	"	49,96	70,4
	25	1660	109	1023	"	24,66	22,6
	26	1570	113	1025	"	28,06	24,8
	27	1540	105	1025	"	25,54	24,3
7	21/VII	1920	91	1023	alkalisch	99,48	109,3
	22	1960	72	1026	"	92,96	129,1
	23	1970	60	1030	"	90,00	150,0
	24	1950	68	1027	"	91,46	134,5
	25	1950	69	1027	"	90,00	130,4
	nach d. Operation						
	26	1920	45	1035	"	60,94	135,4
	27	1980	42	1032	"	49,74	118,4
	28	1900	67	1025	"	41,42	61,8
8	22/VII	2020	113	1020	alkalisch	63,00	55,8
	23	2020	96	1022	"	70,88	73,8
	24	2000	108	1021	"	65,80	60,9
	25	2000	93	1020	"	76,62	82,4
	nach d. Operation						
	26	2000	74	1028	"	49,96	67,5
	27	2010	108	1025	"	73,12	67,7
	28	1990	141	1020	"	67,00	47,5
	29	1950	160	1025	"	26,24	16,4
	30	1780	225	1015	"	67,00	30,0
	31	1620	161	1025	"	spur	

TABELLE II. (Kontrolle)

Versuch Nr.	Datum	Körper- gewicht	Harnmenge	Spez. Gewicht	Reaktion	Kreatinin	
		g	cem			mg.	%mg.
	14/VI	2270	130	1018	alkalisch	95,30	73,3
	15	2280	137	1017	„	96,68	70,6
	16	2300	145	1017	„	92,22	63,6
	17	2310	129	1018	„	92,22	71,5
	18	2320	145	1017	„	96,22	66,4
	19	2340	136	1018	„	97,18	71,5
9		nach d. Operation					
	20	2290	44	1026	„	79,86	181,5
	21	2170	138	1026	sauer	90,00	65,2
	22	2100	151	1019	„	109,03	72,2
	23	2100	101	1024	„	84,64	83,8
	24	1970	218	1010	„	70,88	32,5
	25	1910	155	1018	alkalisch	62,28	40,2
	25/VI	2180	107	1020	alkalisch	106,98	100,0
	26	2190	134	1017	„	111,96	83,6
	27	2220	81	1024	„	108,48	133,9
	28	2190	123	1019	„	106,98	87,0
	29	2190	117	1022	„	105,00	89,7
10		nach d. Operation					
	30	2220	82	1020	sauer	69,98	85,3
	1/VII	2070	230	1014	„	95,46	41,5
	2	2020	184	1012	„	123,26	66,9
	3	1895	132	1016	„	96,22	72,8
	4	1930	136	1017	„	98,86	72,6

Versuch Nr.	Datum	Körper- gewicht	Harnmenge	Spez. Gewicht	Reaktion	Kreatinin	
		g	ccm			mg.	%mg.
	1/VII	1860	133	1021	alkalisch	85,90	64,6
	2	1870	107	1022	„	70,88	66,2
	3	1890	111	1024	„	91,46	82,4
	4	1890	109	1020	„	81,00	74,3
	5	1910	109	1022	„	70,88	65,0
	6	1930	116	1019	„	73,12	63,0
11		nach d. Operation					
	7	1890	78	1022	„	62,28	74,8
	8	1850	175	1013	„	91,46	56,2
	9	1780	182	1011	„	88,60	28,6
	10	1760	182	1013	„	90,00	49,4
	11	1660	137	1016	„	84,62	61,8
	12	1590	139	1017	„	84,62	60,8
	2/VII	2220	114	1020	alkalisch	82,18	72,0
	3	2210	148	1017	„	71,76	48,4
	4	2210	138	1017	„	84,62	61,2
	5	2210	117	1019	„	93,72	80,1
	6	2230	139	1016	„	87,20	62,7
	7	2220	149	1014	„	90,00	60,4
12		nach d. Operation					
	8	2250	65	1025	sauer	90,00	138,4
	9	2110	225	1014	„	88,60	39,3
	10	2030	168	1017	„	88,60	52,7
	11	1975	163	1017	„	91,46	56,1
	12	1880	169	1016	„	82,18	48,6
	13	1810	124	1018	alkalisch	78,74	63,5

der absoluten Menge nach eine stärker verminderte Kreatininausscheidung als bei den Kontrolltieren. Dieses Ergebnis steht in Einklang mit den Ergebnissen von Ikoma (1928), Kaziro und Taku (l.c.)

Nach den Daten kann man wohl vermuten, dass der Gallensäureverlust aus dem Organismus, wie z.B. bei Ableitung der Galle nach aussen durch die Gallenblasenfistel, einen vermehrten Wert der Kreatininausscheidung im Harn zeigten würde. Die Arbeit hierüber ist aber noch im Gange.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Bei experimentellem Stauungsikterus wird die Kreatininausscheidung im Harn herabgesetzt.

2. Daraus scheint hervorzugehen, dass die verminderte Kreatininausscheidung auf der durch Überschüsse der Gallensäure im Blut bedingten Herabsetzung der sympathischen Erregbarkeit beruht.

LITERATUR.

- Cathearth, E. P.; Henderson, P. S. und Nöel-Paton, D. (1918): Journ. of Physiolog, **52**, 70.
Ikoma, S. (1928): Okayama Igakkai Zasshi, 40 Jg. 890.
Kaziro, K. und Taku, A.: diese Zeitschr.
Kure, K. (1923): Shinkeigaku Zasshi, **23**, 367.
Meyers, V. C. und Fine, M. S. (1913-14): Journ. of biolog. Chem., **14**, 9; **15**, 283 u. 305; **16**, 169.
Pekelharing, C. A. und Van Hoogenhuyze, C. J. C. (1916): J. Bericht. f. Tierchemie, **46**, 251.
Riesser, O. (1916): Arch. f. exp. Path. u. Pharm., **80**, 183.
Tsuji, K.: noch nicht veröffentlicht.

ÜBER DEN EINFLUSS DER VAGO-SPLANCHNICOTOMIE AUF DIE ZUCKERAUSSCHIEDUNGSSCHWELLE.

VON

SHIN-ICHI KAWASHIMA und YOSHIO IWANAGA.

*(Aus der medizinischen Klinik von Prof. Dr. Ryokichi Inada,
Kaiserliche Universität zu Tokyo.)*

(Eingegangen am 6. September 1929.)

In einer früheren Arbeit hat einer von uns (Kawashima 1928) mitgeteilt, dass die Zuckerausscheidungsschwelle des Hundes nach doppelseitiger Splanchnicotomie ansteigt und dementsprechend die zuckerassimilierende Kraft herabsinkt. Dabei wurde die schwellenerhöhende Wirkung des Acetylcholins ganz vermisst, welche Eda (1927) beim leichten Diabetiker häufig mit der Verschlimmerung der Zuckerassimilation beobachtete. Hier muss gefragt werden, ob die Erhöhung der Schwelle auf dem Ausfall der Sympathicus-Wirkung resp. auf dem Überwiegen der antagonistischen Vagusfunktion beruht, oder ob ein anderes Moment dabei eine wesentliche Rolle spielt. Die erste Annahme steht in Widerspruch zu den in hiesiger Klinik ausgeführten zahlreichen Untersuchungen, welche darauf hindeuten, dass infolge der erhöhten Sympathikotonie als Regel die Steigerung der Zuckerausscheidungsschwelle und die Verschlimmerung der Zuckerassimilation zustande kommen. Dass das Überwiegen der Vagotonie eine Erhöhung der Zuckerausscheidungsschwelle nach sich zieht, scheint auf den ersten Blick mit den Befunden von Hildebrandt (1921), Nakayama (1924) und Shim (1925) im Einklang zu stehen, wonach die Schwelle nach der Vagusdurchschneidung herabsinkt. Aber diese Annahme darf man schwerlich anerkennen, weil verschiedene andere Tatsachen sich nicht damit erklären lassen. Gedacht sei auch hier an die Möglichkeit, dass ein starker operativer Eingriff,

wie der von uns ausgeführte, einen bedeutenden Einfluss auf die Funktion des vegetativen Nervensystems ausübt und so den Schwellenwert sich ändern lässt. Weil die Sachlage also sehr kompliziert aussah, haben wir in vorliegender Arbeit auf die Veranlassung und unter der Leitung von Prof. K. Sakaguchi die Frage eingehend untersucht.

Bei unseren Untersuchungen gingen wir so vor, dass wir zuerst am Versuchstiere die Zuckerausscheidungsschwelle für alimentäre Glykosurie bestimmten, indem wir dem Hunde so viel Traubenzuckerlösung durch den Gummischlauch direkt in den Magen einführten, bis eine Spur von Zucker im Harn auftrat. Der Blutzucker wurde dabei nach Hagedorn-Jensen je halbstündlich drei Stunden lang bestimmt, um den maximalen Blutzuckerwert als den Schwellenwert festzustellen. Dann wurde die Vagotomie doppelseits direkt unter dem Zwerchfell oberhalb der Cardia des Magens ausgeführt. Nachdem das Tier nach mehreren Tagen sich von dem Operationeingriff vollständig erholt hatte, wurde der Schwellenwert wieder bestimmt. Um zu sehen, ob die von oben genannten Autoren festgestellte Herabsetzung der Schwelle nach der Vagusdurchschneidung etwas mit der gesteigerten Sympathikotonie zu tun hat, haben wir die Wirkung des sympathicuslähmenden Ergotamins auf den Schwellenwert des vagotomierten Hundes untersucht. Zugleich wurde der Einfluss des Acetylcholins auf die Schwelle studiert. Endlich haben wir die Nn. Splanchnici major und minor beiderseits durchgeschnitten, um nachzuweisen, wie die Schwelle durch den Ausfall der sympathischen Nervenzirkung beeinflusst wird.

Versuch I. (Hund Nr. 1. Körpergewicht 19–17 kg)

Die einzelnen Daten sind in der Tabelle I. wiedergegeben. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, betrug der Schwellenwert des Hundes im normalen Zustande 0,11 oder 0,12% und wurde gegen die Angabe der oben genannten Autoren durch Vagusdurchschneidung nicht besonders herabgesetzt, sodass er nach der Operation

TABELLE I.

Datum 1928	Zucker- zufuhr g	Operation, Zeit n.d. Operation u. Giftzufuhr	Blutzuckergehalt mg % (Harnzucker %)						Zucker- ausschei- dungs- schwelle %
			Vor	½ Std.	1	1½	2	3	
8/III.	60		92 (-)	114	118 (-)	77	90 (-)	99 (Spur)	0,111- 0,12
18/IV.	47		93 (-)	111	114 (Spur)	119 (-)	98 (-)	95 (-)	
23/IV.	47		90 (-)	110	118 (Spur)	106	103 (Spur)	106 (Spur)	
25/IV.		beiderseitige Vagotomie							
3/V.	47	8 Tage nach d. Operation	86 (-)	90	106 (Spur)	96	92 (-)	101 (-)	0,106- 0,117
7/V.	48	12 Tage	83 (-)	92	110 (-)	98	98 (Spur)	86 (-)	
12/V.	47	18 Tage	90 (-)	117	90 (-)	95	105 (-)	108 (Spur)	
26/V.	47	32 Tage (490 mg Acetylcholin subkutan)	90 (-)	103	178 (-)	160	146 (Spur)	123 (-)	0,17
30/V.	47	36 Tage (0,5 mg Ergotamin subkutan)	90 (-)	111	110 (-)	109	109 (Spur)	104 (-)	0,11
1/VI.		beiderseitige Splanchnicotomie							
8/VI.	47	8 Tage nach d. Splanchni- cotomie	93 (-)	118	115 (-)	90	99 (Spur)	95 (-)	0,118
11/VI.	47	11 Tage	90 (-)	104	160 (0,3)	153	115 (Spur)	79 (-)	etwas niedriger als 0,16
13/VI.	47	13 „	103 (-)	145	132 (Spur)	115	105 (Spur)	92 (-)	
16/VI.	47	16 „	95 (-)	113	106 (Spur)	123	84 (-)	84 (-)	0,12
17/VII.	58	47 „	98 (-)	121	112 (-)	105	105 (Spur)	110 (-)	
19/VII.	40	48 „	91 (-)	80	87 (-)	91	95 (-)	95 (Spur)	0,10
20/VII.	40	49 „	101 (-)	107	101 (-)	100	105 (-)	104 (Spur)	

TABELLE II.

Datum 1929	Zucker- zufuhr g	Operation, Zeit n.d. Operation u. Giftzufuhr	Blutzuckergehalt mg % (Harnzucker %)						Zucker- ausschei- dungs- schwelle %
			Vor	1/2 Std.	1	1 1/2	2	3	
6/III.	45		92 (-)	109	115 (-)	108	94 (-)	93 (-)	0,12
8/III.	52		96 (-)	125	105 (Spur)	85	90 (Spur)	85 (-)	
10/III.		Vagotomie beiderseits							
19/III.	47	9 Tage nach d. Operation	94 (-)	105	85 (Spur)	96	90 (-)	85 (-)	0,095- 0,117
22/III.	49	12 Tage	85 (-)	85	95 (-)	94	90 (-)	81 (Spur)	
12/IV.	49	32 „	96 (-)	117	105 (Spur)	106	99 (Spur)	92 (-)	
26/V.	49	46 Tage (Acetylcholin 310 mg (10%) subkutan)	100 (-)	175	181 (Spur)	197	148 (Spur)	132 (0.33)	etwas niedriger als 0,197
30/V.	48	52 Tage (Ergotamin 0,5 mg subkutan)	103 (-)	110	104 (0.34)	99	100 (-)	103 (-)	unter 0,11
31/V.		Splanchnicotomie beiderseits							
9/VI.	47	10 Tage n.d. Operation	90 (-)	170	166 (Spur)	136	118 (Spur)	90 (-)	0,17
12/VI.	47	13 Tage	103 (-)	245	295 (+)	234	97 (1.01)	90 (0.8)	
16/VI.	48	17 „	95 (-)	106	113 (Spur)	120	97 (Spur)	113 (Spur)	0,12- 0,13
17/VI.	48	18 „	96 (-)	126	130 (Spur)	132	122 (Spur)	113 (-)	
11/VII.	50	41 „	87 (-)	94	101 (Spur)	101	98 (-)	89 (-)	0,10- 0,11
12/VII.	47	42 „	106 (-)	100	107 (-)	98	98 (-)	105 (-)	
13/VII.	50	43 „	84 (-)	89	91 (Spur)	89	98 (-)	85 (-)	

0,106–0,117% betrug. Das Acetylcholin wirkte aber auch nach der Vagotomie deutlich schwellenerhöhend, indem die Ausscheidungsschwelle bis auf 0,17% anstieg. Dagegen war die Injektion von Ergotamin auf den Schwellenwert ganz wirkungslos; er zeigte dabei 0,11%. Nach der Splanchnicotomie blieb die Schwelle am achten Tage unverändert. Aber am elften Tage stieg sie deutlich an (0,15%), um bald (am 17. Tage) wieder zu einem normalen Wert (0,12–0,10%) abzuklingen. Weil bei unseren Versuchen zumeist gleich grosse Mengen von Traubenzucker gebraucht wurden, kann man leicht aus der Tabelle ersehen, dass die Schwankung der Zuckerausscheidungsschwelle mit der Zuckerassimilationsfähigkeit des Organismus parallel ging.

Versuch II. (Hund Nr. 2, Körpergewicht 16 Kg.)

Wie die Tabelle II zeigt, war das Untersuchungsergebnis im Grossen und Ganzen genau dasselbe wie beim vorangehenden Versuche.

Der normale Wert der Zuckerausscheidungsschwelle war bei diesem Versuchstiere (Nr. 2.) etwa 0,12%. Nach der Vagusdurchschneidung schwankte die Schwelle zwischen 0,095 und 0,117%. Die darauf folgende Acetylcholin-Injektion ergab hier auch eine deutliche Erhöhung des Schwellenwertes und eine Verschlimmerung der Zuckerassimilation. Beim Ergotamin-Versuche zeigte sich der Schwellenwert etwas niedriger als 0,11%. Am 10. Tage nach der Splanchnicotomie war er deutlich erhöht (0,17%), obwohl er schon am 17. Tage wieder zur Norm zurückkehrte. Später ging er noch weiter herab, bis er denselben Wert (0,10–0,11%) erreichte, den er nach einfacher Vagotomie zeigte.

Versuch III. (Hand Nr. 3, Körpergewicht 12 Kg.)

Einzelheiten sind in der Tabelle III angegeben.

Die Tabelle III zeigt, dass der Schwellenwert des Tieres im normalen Zustande ca. 0,11% war. Nach der Vagotomie zeigte er eine leichte Herabsetzung (ca. 0,09%). Das Acetylcholin wirkte

TABELLE III.

Datum	Zucker- zufuhr g	Operation, Zeit n.d. Operation u. Giftzufuhr	Blutzuckergehalt mg % (Harnzucker %)						Zucker- ausschei- dungs- schwelle %
			Vor	½ Std.	1	1½	2	3	
6/III.	30		95 (-)	111	95 (-)	108	106 (-)	110 (Spur)	} ca. 0,11
8/III.	32		93 (-)	105	117 (-)	102	98 (Spur)	84 (Spur)	
10/III.		Vagotomie							
17/III.	32	7 Tage n.d. Operation	83 (-)	91	86 (0.32)	87	73 (-)	81 (-)	} ca. 0,09
19/III.	30	9 Tage	93 (-)	110	63	101	83 (+)	87 (0.42)	
27/V.	32	17 Tage (Acetylcholin 330 mg)	95 (-)	265	151 (0.3)	87	96 (Spur)	112 (Spur)	ca. 0,26
29/V.	32	19 Tage (Ergotamin 0,5 mg)	90 (-)	100	94 (Spur)	94	93 (-)	92 (-)	0,10
2/VI.		Splanchnicotomie							
9/VI.	32	7 Tage	93 (-)	120	115 (Spur)	114	93 (-)	104 (-)	0,12
11/VI.	32	9 „	98 (-)	156	139 (0.3)	130	104 (Spur)	97 (Spur)	0,15
16/VI.	32	14 „	96 (-)	138	120 (-)	106	97 (Spur)	116 (Spur)	0,13
17/VI.	32	15 „	95 (-)	118	126 (-)	102	97 (Spur)	89 (-)	0,12

auf die Zuckerassimilation sehr stark schädigend und dementsprechend auf den Schwellenwert erhöhend (ca. 0,26%). Ergotamin war auch bei diesem Tiere ganz wirkungslos. Nach der Splanchnicotomie zeigte die Schwelle am 7. Tage noch den normalen Wert (0,12%), während sie am 9. Tage deutlich erhöht war (ca.

0,16%), um später bald wieder herabgesetzt zu werden, so dass sie schon am 15. Tage normal (0,12%) gefunden wurde. Weil die Beobachtung bei diesem Fall leider nicht lange genug nach der Operation fortgesetzt wurde, ist es unentschieden, ob die Schwelle auch hier wie bei den vorangehenden Versuchen im weiteren Ver-

TABELLE IV.

Datum 1928	Zucker- zufuhr g	Operation, Zeit n.d. Operation u. Giftzufuhr	Blutzuckergehalt mg % (Harnzucker %)						Zucker- ausschei- dungs- schwelle %
			Vor	½ Std.	1	1½	2	3	
19/III.	43		90 (-)	122	129 (0.38)	113	92 (-)	88 (-)	} ca. 0,11
22/III.	36		93 (-)	110	96 (Spur)	100	88 (Spur)	84 (-)	
23/IV.	35		95 (-)	112	114 (Spur)	115	109 (-)	104 (-)	
27/IV.		Vagotomie							
7/V.	37	10 Tage n.d. Operation	90 (-)	95	107 (-)	120	96 (0.48)	90 (-)	} 0,11 od, ein wenig niedri- ger
10/V.	34	13 Tage	95 (-)	107	92 (-)	88	85 (0.59)	92 (-)	
14/V.	34	17 „	90 (-)	113	103 (Spur)	99	105 (-)	90 (-)	
27/V.	32	30 Tage (Acetylcholin 360 mg)	95 (-)	178	110 (Spur)	83	85 (-)	70 (-)	0,178
29/V.	32	32 Tage (Ergotamin 0.5 mg)	90 (-)	107	83 (-)	92	89 (Spur)	83 (-)	0,107
1/VI.		Splanchnicotomie							
13/VI.	30	13 Tage	107 (-)	163	157 (Spur)	116	102 (-)	90 (Spur)	0,16
16/VI.	30	16 „	96 (-)	148	128 (Spur)	120	128 (Spur)	127 (-)	0,15
17/VI.	30	17 „	93 (-)	148	157 (0,5)	126	121 (+)	111 (Spur)	unter 0,157

TABELLE V.

Datum 1928	Zucker- zufuhr g	Operation, Zeit n.d. Operation u. Giftzufuhr	Blutzuckergehalt mg % (Harnzucker %)						Zucker- ausschei- dungs- schwelle %
			Vor	½ Std.	1	1½	2	3	
18/IV.	32		95 (-)	130	130 (-)	116	93 (-)	88 (Spur)	ca. 0,13
23/IV.	30		90 (-)	112	119 (-)	130	122 (-)	106 (Spur)	
25/IV.		Vagotomie							
3/V.	32	8 Tage n.d. Operation	95 (-)	105	103 (Spur)	115	106 (-)	90 (-)	ca. 0,11
7/V.	34	12 Tage	85 (-)	96	106 (-)	110	102 (Spur)	90 (Spur)	
14/V.	33	19 „	90 (-)	125	106 (-)	106	106 (Spur)	108 (-)	
17/V.	34	22 „	92 (-)	117	102 (0,4)	95	102 (+)	102 (+)	
23/V.	33	28 „	90 (-)	108	92 (-)	101	99 (Spur)	94 (-)	
26/V.	33	31 Tage (Acetylcholin 359 mg)	110 (-)	241	215 (-)	142	148 (0,37)	140 (-)	ca. 23 (unter 0,24)
29/V.	32	34 Tage (Ergotamin 0,5 mg)	94 (-)	105	94 (Spur)	99	93 (Spur)	86 (-)	0,105
2/VI.		Splanchnicotomie							
11/VI.	32	9 Tage	97 (-)	121	132 (Spur)	136	127 (Spur)	103 (-)	0,13
16/VI.	32	14 „	96 (-)	120	120 (Spur)	113	113 (-)	106 (-)	0,12
17/VI.	32	15 „	93 (-)	119	110 (-)	97	100 (Spur)	85 (-)	
11/VII.	41	40 „	107 (-)	120	109 (-)	109	104 (-)	106 (-)	über 0,12
13/VII.	45	42 „	96 (-)	124	106 (Spur)	103	117 (-)	92 (-)	0,12
17/VII.	46	46 „	100 (-)	101	106 (Spur)	112	109 (0,4)	105 (0,41)	ca. 0,1

laufe noch weiter bis auf einen solch niedrigen Wert (0,09%) herabsinkt, wie er nach einfacher Vagotomie gefunden wurde.

Versuch IV. (Hund Nr. 4. Körpergewicht 13 Kg.)

Wie man aus der Tabelle IV ersieht, war der normale Schwellenwert des Tieres 0,11%. Nach der Vagotomie sank die Schwelle ein wenig, während sie durch das Acetylcholin eine deutliche Erhöhung (0,178%) erfuhr. Dagegen war das Ergotamin auch hier auf die Schwelle fast wirkungslos. Am 13. Tage nach der Splanchnicotomie wurde eine deutliche Steigerung der Schwelle konstatiert, welche bis zum 17. Tage fortbestand.

Versuch V. (Hund Nr. 5. Körpergewicht 13–11 Kg.)

Aus der Tabelle V. kann man ersehen, dass der normale Schwellenwert des Hundes ca. 0,13% war. Nach der Vagotomie setzte er sich etwas herab, sodass er ca. 0,11% betrug. Unter der Einwirkung des Acetylcholins stieg er sehr stark, nämlich bis auf annähernd 0,24%, an, während er beim Ergotamin-Versuche

TABELLE VI.

Die Zuckerausscheidungsschwelle unter verschiedenen Untersuchungsbedingungen.

Versuchs-Nr.		1	2	3	4	5
Normal (Vor der Operation)		0,118	0,12	0,11	0,11	0,13
Nach der Vagotomie	{ Acetyl- cholin Ergotamin	0,106- 0,117	0,095- 0,117	0,09	unter 0,11	0,11
		0,17	0,19	0,26	0,178	0,23
		0,11	unter 0,11	0,10	unter 0,107	0,105
Nach der Splanchni- cotomie	{ I. Woche II. Woche III. Woche Später	0,118		0,12		0,13
		0,16- 0,145	0,17	0,15	0,16	0,12
		0,12	0,12- 0,13	0,13	unter 0,157	
		0,10	0,09- 0,11			0,10- 0,12

unverändert blieb (0,105%). Nach der Splanchnicotomie wurde der Anstieg des Schwellenwertes bei diesem Fall im Gegensatz zu den übrigen Fällen ganz vermisst.

Der Übersichtlichkeit halber geben wir im folgenden unsere Untersuchungsergebnisse in einer Tabelle VI. zusammengestellt.

Wie die Tabelle zeigt, wurde der Schwellenwert nach der Vagotomie zwar nur andeutungsweise, aber ohne Ausnahme in allen Fällen etwas niedriger gefunden, als im normalen Zustand. Hieraus könnte man wohl annehmen, dass die Vagusdurchschneidung auf den Schwellenwert bei alimentärer Glykosurie einen geringen, aber doch etwas herabsetzenden Einfluss ausübt. Gegen diesen Befund stehen die Arbeiten von Hildebrandt, Nakayama und Shim, welche am Kaninchen nach der Vagotomie eine deutliche Herabsetzung der Zuckerausscheidungsschwelle bei der Adrenalinglykosurie beobachteten. Dieser Unterschied der Untersuchungsergebnisse beruht u.E. höchst wahrscheinlich nicht auf der Verschiedenheit der Versuchstiere, sondern eher auf der Ungleichheit der Glykosuriearten, einerseits die alimentäre und andererseits die Adrenalin-Glykosurie. Da Nakayama (1924) in unserer Klinik feststellte, dass die Zuckerausscheidungsschwelle bei Adrenalin-Glykosurie weit höher liegt als bei der alimentären liegt der Gedanke nahe, dass ein schwellenherabsetzendes Moment wie die Vagotomie dort bei einer abnorm gesteigerten Schwelle deutlicher, als hier bei einem normalen Werte, genau so auftreten kann, wie Antipyretica nur beim Fieber und das Insulin besonders bei einem übernormal erhöhten Blutzuckergehalt deutlich herabsetzend wirken.

Dass Ergotamin bei keinem von unseren vagotomierten Hunden irgend einem Einfluss auf den Schwellenwert ausübte, beweist weiter, dass die von oben genannten Autoren beobachtete Herabsetzung der Zuckerausscheidungsschwelle durch Vagusdurchschneidung wenigstens nicht auf der sympathischen Tonussteigerung beruht. Hier sei bemerkt, dass Eda (1928) neulich fand, dass das Ergotamin die Zuckerausscheidungsschwelle des Diabetikers

oder des kohlenhydratarm genährten Hundes nicht immer, aber häufig ein wenig herabsetzt. Es scheint also höchst wahrscheinlich, dass Ergotamin nur auf die durch Sympathicuserregung gesteigerte Schwelle erniedrigend einwirkt.

Dass das Acetylcholin, welches nach Eda (1927) beim leichten Diabetiker häufig den Schwellenwert erhöht, auch nach der Vagotomie eine solche Wirkung zu entfalten in der Lage ist, ist von vornherein zu erwarten, weil der Angriffspunkt des Giftes bekanntlich in den Vagusendigungen, also mehr peripher als die durchgeschnittene Stelle, oder im Sympathicuszentrum liegt.

Nach der beiderseitigen Splanchnicotomie fanden wir, dass der Schwellenwert noch nicht in der ersten Woche, jedoch in der zweiten gewöhnlich eine deutliche Steigerung zeigte und in der dritten oder später wieder bis zur Norm resp. zu dem subnormalen Wert zurückkehrte, den der Schwellenwert nach der Vagotomie zeigte. Wenn man die Sache nicht eingehend erwägt, so könnte man vielleicht aus unserem Untersuchungsergebnisse schliessen, dass die Splanchnicotomie resp. die Hypofunktion des sympathischen Nervensystems auf die Zuckerausscheidungsschwelle erhöhend einwirkt, und dass dieser Befund mit der Ansicht von Dünner (1922) und Joel (1922), nach welcher die Erniedrigung des Schwellenwertes durch die Erregung des sympathischen Nervensystems hervorgerufen wird, im Einklang steht. Wenn dies aber der Fall wäre, so müsste der Anstieg der Schwelle noch schnell in die Erscheinung treten, wie die Herabsetzung der Schwelle bei der Vagotomie schon einige Tage nach der Operation beobachtet wurde (Nakayama 1924). Dass das sympathicuslähmende Ergotamin nach den Untersuchungen von Eda wie von uns gar nicht schwel-lenerhöhend, sondern nach Eda häufig eher erniedrigend wirkt, spricht auch gegen die Annahme, dass die Steigerung des Sympathicustonus eine Erniedrigung der Schwelle nach sich zieht. Diese letztere Hypothese von Dünner und Joel wurde schon früher auch von Shim ganz abgelehnt. Wir nehmen also eher als wahrscheinlich an, dass die Erhöhung der Schwelle nach der

Splanchnicotomie als eine vorübergehende Reaktion des Organismus gegen den plötzlichen Ausfall der zentralen Sympathicuswirkung zustande kommt, um nach gewisser Zeit, als der Organismus daran gewöhnt war, wieder zum praeoperativen Wert zurückzukehren. Der genauere Mechanismus, wie dieser Vorgang zustande kommt, ist schwer einwandfrei zu erläutern.

Bei unseren Versuchen konnten wir auch noch konstatieren, dass die Zuckerassimilationskraft regelmässig mit der Schwankung der Zuckerausscheidungsschwelle sich veränderte, indem bei der Erhöhung der letzteren die alimentäre Hyperglykämie bei der Zufuhr einer gleich grossen Zuckermenge sich stärker zeigte als sonst.

KURZE ZUSAMMENFASSUNG.

1. Die Vagotomie senkt nur andeutungsweise die normale Zuckerausscheidungsschwelle bei der alimentären Glykosurie. Weil viele Autoren durch Vagusdurchschneidung eine deutliche Herabsetzung der Schwelle bei Adrenalinglykosurie beobachteten und weil Adrenalin die Zuckerausscheidungsschwelle stark erhöht, so muss man annehmen, dass die Vagotomie nur die schwellenerhöhende Wirkung des Adrenalins unterdrückt, aber den normalen Schwellenwert nicht merklich beeinflusst.

2. Der zur Subnorm abgesunkene Schwellenwert der vagotomierten Hunde wird durch Ergotamin gar nicht beeinflusst.

3. Das Acetylcholin konnte auch bei vagotomierten Hunden den Schwellenwert deutlich erhöhen.

4. Nach der beiderseitigen Splanchnicotomie ergab sich, dass die Zuckerausscheidungsschwelle noch nicht in der ersten Woche, aber gewöhnlich in der zweiten deutlich anstieg, um in der dritten oder später wieder bis zum präoperativen Wert zurückzusinken.

5. Bei unseren Untersuchungen erwies sich, dass die Erhöhung der Zuckerausscheidungsschwelle gewöhnlich von einer Verschlechterung der Zuckerassimilation begleitet war.

LITERATUR:

- Dünner, L. (1922): Therap. d. Gegenwart **63**.
Eda, G. (1927): Journal of Biochemistry, **7**.
Hildebrandt, F. (1921): Arch. f. experim. Path. u. Pharm., **90**.
Jeol, E. (1922): Therap. d. Gegenwart, **63**.
Kawashima, S. (1928): Journal of Biochemistry, **9**.
Nakayama, M. (1924): Journal of Biochemistry, **4**.
Shim, H. S. (1925): Journal of Biochemistry, **5**.

STUDIEN ÜBER DIE MILCHSÄURE IM BLUTE.

I. MITTEILUNG.

Über den Ruhewert und die Verteilung der Milchsäure im Blute.

VON

KATSUMASA NOSHI.

(Aus der II. Medizinischen Klinik der Medizinischen Akademie zu Osaka.

Direktor: Prof. Dr. S. Kozawa.)

(Eingegangen am 19. September 1929.)

INHALTSVERZEICHNIS.

- I. Über den Ruhewert der Milchsäure im Blute einiger Laboratoriumstiere.
 - a) Einleitung.
 - b) Methodisches.
 - c) Epikrise.
- II. Über die Verteilung der Milchsäure im Blute.
 - a) Einleitung.
 - b) Methodisches.
 - c) Epikrise.
- III. Zusammenfassung.

Literatur.

I. ÜBER DEN RUHEWERT DER MILCHSÄURE IM BLUTE EINIGER LABORATORIUMSTIERE.

A. Einleitung.

Es gibt eine Anzahl von Arbeiten über die Milchsäure in verschiedenen Organen und Körperflüssigkeiten.

Was die Milchsäure im Blute betrifft, so hat Enderlin (1843) sie niemals beim Ochsen, Menschen, auch nicht bei Pneumonikern gefunden. Später hat H. Meyer (1883) aus normalem Pferde-, Kalbs- und Hundeblood dieselben negativen Resultate bekommen. Salomon (1876), der 66 Untersuchungen auf Milchsäure am normalen und Leichenblute von Menschen und Hunden vornahm, erhielt in 21 Fällen mit Aderlassblut von an verschiedenen Er-

krankungen leidenden Patienten vorwiegend negative und zweifelhafte Resultate. Nur vereinzelt gelang es ihm, Milchsäure im Aderlassblut von Hunden, dagegen fast regelmässig im Leichenblut nachzuweisen. Spiro (1877) fand Milchsäure im Blute der Kaninchen nach angestrenzter Muskeltätigkeit. Minkowski (1885) hat einmal im Blute eines normalen Hundes vergeblich nach Milchsäure gesucht, ein anderes Mal gelang es ihm jedoch, aus ca. 350 ccm Blut eines Hundes ca. 20 mg milchsaures Zink zu gewinnen, und v. Frey (1885) ist es gelungen, die Milchsäure als konstanten Bestandteil des normalen Hundeblutes nachzuweisen. Ein Jahr später kam Gaglio (1886) am Kaninchen- und Hundeblut zum gleichen Ergebnis; diesem Ergebnis traten Berlinerblau (1887) und Morishima (1900) für das Menschenblut, und Saito u. Katsuyama (1901) für Hühnerblut bei. Irisawa (1892), der im Aderlassblut vom Hunde sowie im Leichenblut vom Menschen den gleichen Befund machte, fand weiter, dass nach künstlich erzeugter Anämie der Milchsäuregehalt des Blutes um so höher war, je stärker der Sauerstoffmangel eintrat.

Andererseits wurden die Bestimmungsmethoden der Milchsäure immer verbessert und verfeinert, bis von Mendel und Goldscheider eine kolorimetrische Bestimmungsmethode (1925) angegeben wurde. Mittels dieser verbesserten Bestimmungsmethode nahmen mehrere Autoren z.B. Hansen, Rieser und Nagaya (1928) ihre Studien an Gewebe und Körperflüssigkeiten wieder auf.

Betreffs der Körperflüssigkeiten, insbesondere des Blutes, sei zuerst auf die Versuche von Mendel und seinen Mitarbeitern (1925) hingewiesen. Sie konstatierten beim Menschen, dass der Milchsäuregehalt des Blutes sich nach längerer, völliger Muskelruhe auf einen bestimmten Wert einstellte, und bei weiterer Muskelruhe nicht mehr sank. Sie bezeichneten diesen Wert als den "Ruhewert" eines Individuums. Von diesen grundlegenden Arbeiten von Mendel und seinen Mitarbeitern angeregt, untersuchten von neuem mehrere Autoren, nämlich Valentin (1925), Schumacher (1926),

Büttner (1926), Adler und Lange (1927) und ich (1927–28) den Milchsäuregehalt des Blutes und der anderen Körperflüssigkeiten sowohl beim gesunden als auch beim erkrankten Menschen.

Über den Milchsäuregehalt des Blutes bei einzelnen Tierspezies ist die Arbeit von Collazo und Morelli (1925), die ihn systematisch beim Menschen und 16 Tierarten untersucht hat, die einzige. Sie enthält folgende Schlüsse; 1), que la teneur de l'acid lactique du sang des espèces est différente, 2), que l'acid lactique du sang des individus de la même espèce oscille entre des limites restreintes; les oscillations sont plus grands chez les petits animaux; 3), que, dans chaque espèce, le sang a une teneur en acid lactique à peu près fixe dans certaines conditions. Obwohl die Autoren die Versuchstiere möglichst ruhig liessen und das Blut den Tieren im nüchternen Zustand entnahmen, war es doch schwer, solche Bedingungen vollständig zu erfüllen. Die Tatsache, dass eine kleine Muskelbewegung des Tieres einen grossen Einfluss auf den Milchsäuregehalt des Blutes ausüben kann, ist schon von Mendel u.a. beschrieben. Daneben sieht man auch in der Tabelle von Collazo (Kol. II, Tab. I) eine grosse Schwankung des Milchsäuregehaltes in einer Tierart, z.B. von 13 bis 100 mg/dl. Obwohl diese Arbeit uns die äusserste Labilität der Milchsäure im Blute lehrt, hat sie doch keine grosse Bedeutung für den Durchschnittswert, der aus diesen in weiten Grenzen schwankenden Zahlen stammt.

Auf Anregung von Prof. Kozawa habe ich mich bemüht, den Milchsäuregehalt des Blutes der verschiedenen Tiere näher zu verfolgen. Meine Aufgabe lautete: 1) Kann man den Ruhewert wie beim Menschen auch bei Tieren einstellen? 2) Wie verhält sich der Milchsäuregehalt des Blutes bei Muskelbewegung?

B. Methodisches.

Als Versuchstiere wählte ich Hunde, Kaninchen, Tauben und Ochsenfrösche und bestimmte die Milchsäure des Blutes genau nach Mendel-Goldscheiderscher Methode (1925).

*I. Milchsäuregehalt des Blutes der sich frei
bewegenden Tiere.*

Das Blut von Hunden, Kaninchen und Tauben nahm ich nach 24 stündigem Fasten und zwar von Hunden und Kaninchen nach Fesselung durch Herzpunktion, von Tauben durch Punktion der Flügelvenen und von Fröschen durch Cardiotomie. Während der Blutentnahme waren Hunde und Tauben meistens ruhig, Kaninchen bald ruhig, bald unruhig, Frösche immer unruhig.

Meine hierbei erzielten Ergebnisse sind in Kolonne I, Tab. I und die von Collazo zum Vergleich in Kolonne II angegeben.

TABELLE I.

Tierart	Kol. I (Verfasser) Mg Milchsäure in 100 ccm Blut				Kol. II (Collazo & Morelli)		
	Minimal- gehalt	Maximal- gehalt	Durch- schnitts- wert	Anzahl d. versucht. Indivi- duen	Minimal- gehalt	Maximal- gehalt	Durch- schnitts- wert
Hund	20	60	40,6	5	10	48	23,7
Kaninchen	25	164	72,8	7	13	100	51
Taube	13	31	23,5	5	19	36	29
Frosch	52	103	74,8	7	20	27	23

*II. Milchsäuregehalt des Blutes der von Muskelbewegungen
durch Narkose abgehaltenen Tiere.*

Um die Versuchstiere während des bestimmten Zeitraums und während des Blutentnehmens vollkommen ruhig zu halten, narkotisierte ich sie durch subcutane Injektion von 1 bis 2 g. Urethan (Äthyl) pro kg. Körpergewicht.

Hierbei ergaben sich folgende Resultate: (Tab. II, III u IV).

Man sieht in der Tab. II, dass die Milchsäure im Blute nach Aufheben der willkürlichen Muskelbewegung allmählich einen niedrigeren Wert erreicht, der längere Zeit völlig konstant bleibt.

TABELLE II.

Abnahme der Blutmilchsäure nach Muskelruhe durch Narkose.

Tierart	Nr. d. Individuums	Blutmilchsäure mg/dl.	Narkose (Urethan)	Muskelbewegung und Dauer d. Ruhe
Kaninchen	1	74	—	heftig bewegt
	„	30	+	1 Std. Ruhe
	„	6,8	+	2 „ „
	„	7,2	+	3 „ „
	11	95	—	heftig bewegt
	„	24	+	1 Std. Ruhe
	„	9,1	+	2 „ „
	„	7,7	+	3 „ „
Tauben	1	13,6	+	2–3 Std. Ruhe
	2	16,3	+	„ „
	3	12,3	+	„ „
	4	15,5	+	„ „
	5	13,9	+	„ „
Frosch	1	8,8	+	„ „
	2	12,0	+	„ „
	3	10,5	+	„ „
	4	9,9	+	„ „
	5	11,2	+	„ „
	6	9,3	+	„ „
	7	10,1	+	„ „

Es ist selbstverständlich bei kleineren Tieren, wie Fröschen und Tauben, technisch unmöglich, das Blut in kurzer Zeit mehrmals zu entnehmen, doch kann man sich mit der Tatsache zufrieden geben, dass der Milchsäuregehalt solcher Tiere in jedem Fall nach 2 stündiger Muskelruhe einen niedrigeren Wert zeigt und die individuelle Schwankung desselben nur unbedeutend ist.

Es gibt eine Anzahl von Untersuchungen, die besagen, dass das Urethan—homologe Reihe—in Fermentlösung oder in Gewebsaufschwemmung antifermentativ wirkt (Meyerhof 1914; Minami

1923). Danach ergibt sich die Frage, ob nicht das Urethan, das ich zur Narkose benutzt habe, die Milchsäurebildung im Körper direkt gehemmt haben könnte. Dass dieses im ganzen Organismus nicht der Fall ist, lässt sich wie folgt beweisen: Wenn man nämlich das Tier, dessen Milchsäuregehalt des Blutes einmal auf den Ruhewert eingestellt ist, durch heftige Schmerzstiche aus den Narkose erweckt und den Körper heftig bewegen lässt, steigt der Milchsäuregehalt des Blutes schnell bis zur Höhe vor der Narkose. Siehe Tab. III.

TABELLE III.

Kaninchen-Nr.	Milchsäuregehalt des Blutes (mg/dl)		
	vor d. Narkose	nach 2 Std. Muskelruhe durch Urethan-Narkose	nach vorübergehendem Aufwecken aus d. Narkose
1	68,5	9,1	45,7
2	73,8	9,8	38,6
3	74,5	8,1	80,9

Aus obigem Versuche kann man schliessen, dass die Abnahme der Milchsäure im Blut nicht durch die antifermentative Wirkung des Urethan bedingt ist, sondern hauptsächlich durch Muskelruhe sekundär verursacht wird.

Kurz, die Milchsäure im Blute stellt sich immer nach 2 stündiger vollkommener Muskelruhe auf einen bestimmten Wert ein und bleibt bei längerer Muskelruhe fast konstant. Dieser Wert kann als "Ruhewert" des betreffenden Tieres betrachtet werden.

Die durch Narkose gewonnenen Ruhewerte einiger Laboratoriumstiere habe ich in Tab. IV zusammengestellt.

TABELLE IV.

Milchsäuregehalt des Blutes der durch Narkose beruhigten Tiere (mg/dl).

Tierart	Minimal- gehalt	Maximal- gehalt	Durchschnitts- wert	Anzahl d. untersuchten Tiere
Kaninchen	6,8	9,8	8,4	5
Taube	12,3	16,3	14,7	5
Frosch	8,8	12,0	10,3	7
(Hund)	(49)	(58)	(53)	(3)

C. Epikrise.

Bei den sich frei bewegenden Tieren jeder Art besteht ein sehr grosser Unterschied zwischen dem minimalen und maximalen Milchsäurewert des Blutes. Diese Feststellung stimmt mit der von Collazo und Morelli überein.

Minimal-, Maximal- und Durchschnittswert des Hundes, Kaninchens und Frosches in meinen Versuchen waren etwas höher als die von Collazo und Morelli angegebenen Zahlen, dagegen erhielt ich bei Untersuchungen an der Taube fast mit ihnen übereinstimmende Werte. Während Collazo und Morelli die Tiere vor dem Versuche möglichst ruhig gehalten haben, habe ich die Tiere sich frei bewegen lassen. Was die Tauben anbetrifft, waren sie gemäss ihrem Charakter immer ruhig. Das ist wohl der eine Grund, dass die Ergebnisse von Collazo und mir über Tauben fast gleich ausfielen.

Als Ursache der Schwankung des Durchschnittswertes jeder Tierart, wie sie in Kol. II, Tab. I gezeigt ist, haben Collazo und Morelli die Artspezifität des Milchsäuregehaltes des Blutes vorgeschlagen. Das Wort "Artspezifität" ist aber nicht geeignet, weil die Blutentnahme je nach der Tierart technisch weit verschieden sein kann, und dieser Umstand naturgemäss Unterschiede der Schmerzen, der psychischen Erregungen und der Muskel-

bewegungen hervorruft. Die Muskelbewegung übt einen direkten Einfluss auf den Milchsäuregehalt des Blutes aus; der Einfluss der psychischen Erregung auf denselben durch das vegetative Nervensystem ist schon von Kawamura (1928) nachgewiesen worden. Der Unterschied der Durchschnittszahlen obiger Werte beruht also keineswegs auf der Artspezifizität im eigentlichen Sinne.

Durch meine Versuche habe ich mich davon überzeugt, dass der Milchsäuregehalt des Blutes bei jeder Tierart zu jeder Zeit schwankend ist, wenn das Blut nicht unter bestimmten Bedingungen entnommen wird.

Im Gegensatz hierzu habe ich aber gefunden, dass der Milchsäuregehalt des Blutes der narkotisierten Tiere (Kaninchen, Taube, Frosch) auffallend niedriger und weit konstanter ist als der der nicht narkotisierten. Beim Hunde sind die Verhältnisse etwas anders, weil nach Urethaninjektion von 1 bis 2 g pro kg Körpergewicht Schlafen und somit Erlöschen der willkürlichen Muskelbewegung eintritt, das jedoch von unerwarteter heftiger Salivation und Dyspnoe begleitet wird. Als die Dyspnoe nach einigen Stunden aufhörte, trat zugleich wieder die willkürliche Muskelbewegung auf. So war es mir unmöglich die Hunde zum Versuch ganz ruhig zu halten. Die in der Tab. IV über das Hundeblut angeführten Zahlen sind die im dyspnoischen Zustand gewonnenen Milchsäurewerte.

Bei den übrigen Tieren, Kaninchen, Tauben und Fröschen, sank der Milchsäuregehalt des Blutes nach der Körperruhe durch Narkose beträchtlich ab und zeigte nach 2 Stunden eine Konstanz (Ruhewert).

Die Ruhewerte zeigen jedoch individuelle Schwankungen in ganz enger Grenze, nämlich bei Kaninchen von 6,8 bis 9,8; bei Tauben von 12,3 bis 16,3; bei Fröschen von 8,8 bis 12,0 mg. pro 100 ccm Blut.

Die Durchschnittszahl der Ruhewerte ist auch je nach der Tierart in engen Grenzen verschieden, nämlich bei Tauben 14,7; bei Fröschen 10,3 und bei Kaninchen 8,4 mg. pro 100 ccm Blut.

II. ÜBER DIE VERTEILUNG DER MILCHSÄURE IM BLUTE.

A. Einleitung.

Gaglio (1886) hat schon früher die Milchsäure im Blut und im Serum eines Hundes bestimmt und gefunden, dass ihre Menge im Serum bedeutend höher ist als die im Vollblut, nämlich 81 mg/dl beträgt. Berlinerblau bestätigte diese Resultate im Jahre 1887. Irisawa (1892) bemerkte aber, dass die Milchsäure nicht nur im Serum, sondern auch in den Blutkörperchen vorkommt. In den Jahren 1926–27 beschäftigten Wittgenstein und Gaedertz sich damit, den Milchsäuregehalt des Blutes und des Serums bei Hunden, Kaninchen und Katzen noch genauer zu bestimmen, und erzielten ähnliche Resultate wie Gaglio u.a.m. Aber auch sie konnten die Verteilung der Milchsäure im Blute zahlenmässig nicht genau ermitteln.

Ich beschäftigte mich daher zunächst damit, festzustellen, wie sich die Milchsäure im Blute auf Blutkörperchen und Serum verteilt und ob irgendeine Artspezifizität bei der Verteilung derselben bestände, wie Massig, Kozawa and andere es in der Zucker-Verteilung in Blutkörperchen und Serum bei verschiedenen Tieren vorgefunden haben.

B. Methodisches.

Als Versuchsmaterial benutzte ich das Blut von Menschen, Hunden, Kaninchen, Tauben und Ochsenfröschen. Um die Zellmembran möglichst nicht zu schädigen und Milchsäurebildung in vitro zu vermeiden, defibrierte ich das Blut mit einer Feder und bestimmte sofort die Milchsäure. Den Milchsäuregehalt der Blutkörperchen kann man aus dem des Serums und des Vollblutes durch Hämatokritenzahl des Vollblutes berechnen.

Zuerst untersuchte ich die Verteilung der Milchsäure im Blute der sich frei bewegenden Tiere, dann die im Blute der unter genügender Narkose (wie bei b) in I) angegeben) stehenden.

Die hierbei erzielten Ergebnisse sind in nächststehender Tab. (V) zusammengestellt.

TABELLE V.
Verteilung der Milchsäure im Blute.

Tierart	Versuchs-Nr.	Milchsäure (mg/dl) in			Serum: Körper- chen	Narkose	Muskel- Bewegung
		Blut- defib.	Körper- chen	Serum			
Mensch	1	48.6	31	55.8	1.8	—	Unmittelbar nach Bewegung
	2	39.1	22	47.7	2.2	—	„
	3	34.7	19	43.2	2.3	—	„
	Durchschnitt	40.8	24	48.9	2.1	—	„
	4	7.9	9	10.4	1.1	—	30 Min. Ruhe
	5	9.0	8	9.3	1.2	—	„
	6	11.4	10	12.3	1.2	—	„
	Durchschnitt	9.4	9	10.7	1.2	—	„
	7	48.8	42	54.6	1.1	—	mässig bewegt
	8	27.3	22	30.6	1.4	—	„
Hund	9	19.8	16	22.3	1.4	—	„
	10	60.4	35	79.6	2.3	—	„
	11	47.8	27	82.2	3.1	—	„
	Durchschnitt	40.8	28	53.9	1.9	—	„
	12	48.8	42	54.6	1.3	+	Dyspnoe
	13	59.1	34	100	2.9	+	„
	Durchschnitt	54.0	38	77.3	2.1	+	„
	14	164	92	227	2.5	—	heftig bewegt
	15	68.5	40	119	2.9	—	„
	16	73.8	23	108	4.6	—	„
Kaninchen	17	74.5	32	166	5.1	—	„
	18	94.5	18	150	8.2	—	„
	Durchschnitt	95.1	41	154	3.7	—	„
	19	64.9	27	96.4	3.5	+	30 Min. Ruhe
	20	23.7	9	33.9	3.9	+	1 Stund. Ruhe
	21	22.8	7	34.8	5.3	+	„
	Durchschnitt	37.1	14	55.0	3.9	+	30–60 Min. Ruhe

Taube	22	6.8	6	7.4	1.2	+	2 Stund. Ruhe
	23	8.4	7	9.1	1.3	+	„
	24	9.8	7	11.4	1.3	+	„
	25	8.1	5	10.3	2.2	+	„
	26	9.1	4	12.4	2.8	+	„
	Durchschnitt	8.4	6	10.1	1.7	+	„
	28	12.3	8	14.5	1.8	—	mässig ruhig
	29	31.2	21	38.3	1.9	—	„
	30	27.1	19	43.0	2.3	—	„
	31	19.0	10	28.5	2.7	—	„
	Durchschnitt	22.4	15	31.8	2.2	—	„
Frosch	32	12.3	5	16.8	3.4	+	2 Stund. Ruhe
	33	13.9	5	18.8	3.8	+	„
	34	15.5	5	20.4	4.1	+	„
	35	13.6	4	21.9	5.5	+	„
	36	16.3	5	23.1	5.6	+	„
	Durchschnitt	14.3	5	21.2	4.2	+	„
	37	103	91	109	1.1	—	heftig bewegt
	38	92.4	85	98.7	1.2	—	„
	39	69.0	53	73.3	1.4	—	„
	40	83.2	64	92.6	1.5	—	„
	Durchschnitt	86.9	73	93.4	1.3	—	„
Frosch	41	9.9	5	12.0	2.4	+	2 Stund. Ruhe
	42	10.5	5	12.8	2.6	+	„
	43	12.0	5	12.3	2.6	+	„
	44	8.8	5	13.5	2.7	+	„
	Durchschnitt	10.3	5	12.7	2.6	+	„

C. Epikrise.

Die Blutkörperchen des Menschen und der Tiere enthalten tatsächlich, wie Irisawa es schon früher gezeigt hatte, Milchsäure in mässiger Menge.

In der Ruhezeit zeigt der Milchsäuregehalt der Blutkörperchen

von Menschen, Kaninchen, Tauben und Fröschen keine merklichen individuellen Schwankungen, sondern bleibt relativ konstant, obgleich sich ein geringer Unterschied je nach der Tierart erkennen lässt. Der Durchschnittswert desselben ist beim Menschen 9, beim Kaninchen 6, bei der Taube 5 und beim Frosch 5 mg/dl.

Bei Bewegung dagegen fand ich bei jeder Tierart das Aufsteigen des Milchsäurespiegels des Vollblutes, wobei die Zunahme der Milchsäure der Körperchen mit der des Serums Hand in Hand ging.

Der Gehalt des Serums an Milchsäure ist meistens höher als der der Körperchen, wie Gaglio und andere es schon bemerkt haben. Ich traf keinen Fall, in dem der Gehalt des Serums an Milchsäure niedriger war als der der Körperchen, obwohl beide Werte in einigen Fällen einander sehr nahe liegen. Kurz, der Milchsäuregehalt des Serums war immer mehr oder weniger grösser als der der Körperchen.

III. ZUSAMMENFASSUNG.

1. Der Milchsäuregehalt des Vollblutes der Laboratoriumstiere, wie des Hundes, des Kaninchens, der Taube und des Frosches, schwankt sowohl individuell als auch von Fall zu Fall bei demselben Individuum in weiten Grenzen (z.B. bei Kaninchen von 25 bis 164 mg/dl), wenn man das Blut nach gewöhnlicher Methode d.h. nur im nüchternen Zustand entnimmt und die Muskelbewegung nicht sistiert.

2. Der Milchsäuregehalt des Vollblutes des Kaninchens, der Taube und des Frosches nimmt beträchtlich ab, wenn man die Muskelbewegung mittels Urethannarkose vollkommen unterdrückt. Er zeigt 2 Stunden nach Aufhebung der willkürlichen Muskelbewegungen durch Narkose einen fast konstanten Wert. Dieser Wert kann als "Ruhewert" der Blutmilchsäure des betreffenden Tieres betrachtet werden.

Ursächlich ist die Abnahme des Milchsäurewertes durch Narkose nicht der direkten Wirkung des Urethan, sondern haupt-

sächlich der Muskelruhe zuzuschreiben.

3. Obwohl die individuelle Schwankung des Ruhewertes bei Kaninchen, Tauben und Fröschen sehr geringfügig ist, ist die Durchschnittszahl der Ruhewerte je nach der Tierart in enger Grenze verschieden, nämlich bei Tauben 14,7, bei Fröschen 10,3 und bei Kaninchen 8,4 mg/dl.

4. Die Blutkörperchen des Menschen, Hundes, Kaninchens, der Taube und des Frosches enthalten immer Milchsäure.

5. Die individuelle Schwankung des Milchsäuregehaltes der Blutkörperchen ist beim Ruhewert des Vollblutes sehr gering, aber die Durchschnittszahl des Milchsäuregehaltes der Blutkörperchen unter dem Ruhewerte des Vollblutes, ist je nach der Tierart etwas verschieden, nämlich bei Menschen 9, Kaninchen 6, Tauben 5 und bei Fröschen 5 mg/dl.

6. Beim Ansteigen des Milchsäurespiegels des Vollblutes nach Muskelbewegung geht die Zunahme der Milchsäure der Körperchen mit der des Serums Hand in Hand, und zwar ist der Milchsäuregehalt des Serums immer höher als der der Körperchen. Man wird dadurch davon überzeugt, dass die Vermehrung der Milchsäure in den Blutkörperchen durch die Vermehrung der Serummilchsäure sekundär herbeigeführt wird.

Zum Schluss möchte ich nicht verfehlen Herrn Prof. Dr. S. Kozawa, Herrn Dr. K. Fukushima und Herrn Dr. R. Iwatsuru meinen aufrichtigsten Dank für ihre Anleitung und Ratschläge auch an dieser Stelle auszusprechen.

LITERATUR.

- Adler & Lange (1927): Deut. Arch. f. klin. Med., **157**.
Berlinerblau (1887): Arch. f. exp. Pathol. u. Pharma., **23**.
Büttner (1926): Klin. Wochenschr., Nr. 33.
Collazo & Morelli (1925): Comp. R. d. S. de la Soc. de Bio, **93**.
Enderlin (1843): Liebigs Annal., **46**.
v. Frey (1885): Raymonds Arch. f. Physiol.
Gaglio (1886): Raymonds Arch. f. Physiol.

- Hansen, Rieser & Nagaya (1928): *Biochem. Zeitschr.*, **196**.
Irisawa (1892): *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **17**.
Kawamura (1928): *Kyoto-Ikadaigaku-Zasshi*, **2**.
Mendel & Goldscheider (1925): *Biochem. Zeitschr.*, **164**.
Mendel & seine Mitarbeiter (1925): *Klin. Wochenschr.*, **4. Jg.**
Meyer (1883): *Archf. exp. Pathol. u. Pharmakol.*, **14, 17**.
Meyerhof (1914): *Arch. f. ges. Physiol.*, **157**.
Minami (1923): *Biochem. Zeitschr.*, **142**.
Minkowski (1885): *Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol.*, **19**.
Morishima (1900): *Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol.*, **43**.
Noshi (1927): *Nippon-Shokwakibyō-gakkai-Zasshi*, **26-Kan, 9-Go**.
„ (1928): *La Iji-Shimbun*, **N-ro, 1240**.
Saito & Katsuyama (1901): *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **32**.
Schumacher (1926): *Klin. Wochenschr.*, **Nr. 12**.
Salomon (1876): *Reymonds Arch. f. Physiol.*
Spiro (1877): *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **1**.
Valentin (1925): *Münch. med. Wochenschr.*, **Nr. 3**.
Wittgenstein & Gaederz (1926-27): *Biochem. Zeitschr.*, **176, 187**.

STUDIEN ÜBER DIE MILCHSÄURE IM BLUTE.

II. MITTEILUNG.

Über das Permeabilitätsproblem der Blutkörperchen gegen dl-, d- und l-Milchsäure.

VON

KATSUMASA NOSHI.

(Aus der II. Medizinischen Klinik der Medizinischen Akademie zu Osaka.

Direktor: Prof. Dr. S. Kozawa.)

(Eingegangen am 19. September 1929.)

I. EINLEITUNG.

Nach Collander (1926) erweist sich die Kollodiummembran gegen Milchsäure durchlässig und zwar die, deren relative Permeabilität (bei Membran vom III. Permeabilitätsgrad) 30,3% ist, falls man für die Schätzung den Ammoniak als Standard (100%) annimmt. Philipppson (1913–20) hat gezeigt, dass die mit dem Muskelätherextrakt imprägnierte Kollodiummembran für Mineralsäuren fast undurchlässig, dagegen aber für organische Säuren im Sinne der Reihe: Ameisen- < Essig- < Milch- < Buttersäure permeabel ist.

Nach den Versuchen von Harvey (1915) an *Stichopus* und von Crozier (1916–22) an *Chromodoris* dringt die Milchsäure in die Zelle ein, kenntlich daran, dass die Farbe der Zellen wegen des von Anfang an darin vorhandenen Indikators umschlägt.

Die Tatsache, dass Milchsäure im Harn ausgeschieden wird, ist von mehreren Autoren, nämlich Schultzen und Riess (1864), Meyer (1881–83), Araki (1891–94), Morishima (1900), Saito und Katsuyama (1901), Inouye und Saiki (1902), Donath (1907), Doesschatte (1907), Zweifel (1909), Furth und Lockmann (1906), Jakubasch (1868), Gottheiner (1897) u.a. bestätigt worden. Da die Ausscheidung von Milchsäure im Harn

der vorausgegangenen Vermehrung derselben im Blut zugeschrieben worden ist, hat man angenommen, dass die Niere gegen Milchsäure permeabel sein soll.

Nach Scheller (1926) enthalten Zerebrospinalflüssigkeit und Pleuraltranssudat ungefähr die gleiche Milchsäuremenge wie das Blut; sie erfährt eine Schwankung je nach dem Gehalt der Säure im Blut. Osnato und Killian (1926), Barnett und Kenny (1926) und ich (1927) kamen zu den gleichen Ergebnissen. Dieses beweist wohl, dass obwohl ein Teil der Säure in den Hohlräumen von Meningen oder Serosa in situ gebildet wird (Lehndorf und Baumgarten 1907; Scheller 1926, u.a.), der grösste Teil der Milchsäure in der normalen Zerebrospinalflüssigkeit oder in den nicht infizierten Transsudaten die aus dem Blut resp. den Lymphgefässen in die Hohlräume diffundierte Säure ist.

Wittgenstein und Gaederz (1926-27) bestimmten die Milchsäure des Kammerwassers und gleichzeitig des Plasmas von Hunden, Kaninchen, Katzen und fanden, dass die des Kammerwassers weitgehend abhängig von der des Plasmas ist. Sie behaupten, dass der grösste Teil der Milchsäure im Kammerwasser aus dem Blut stammt. Auch nach den gleichzeitig angestellten Experimenten mit Kollodiummembran passierte die Milchsäure leicht durch die Membran durch; dabei hatte die H-Ionenkonzentration keinen Einfluss auf das Verteilungsgleichgewicht der Milchsäure.

Seit langem wird mit Recht angenommen, dass die durch Muskularbeit gebildete Milchsäure reichlich von den Muskeln ins Blut übergeht und schliesslich im Harn abgesondert wird. Hill, Long, und Lupton (1924), Jansen und Jost (1925) konnten diese Annahme bestätigen. Dass in umgekehrter Richtung, also von zirkulierender Flüssigkeit in die Muskeln Milchsäure hineintreten kann, ist von Barr, Himwich und Green (1923), Meyerhof (1925), Jansen und Jost (1925) nachgewiesen worden. Die Milchsäure permeiert also äusserst leicht vom Muskel ins Blut und *vica versa*.

Zusammenfassend kann man obige Erläuterungen so auffassen,

dass die tierische Membran sich im allgemeinen gegen Milchsäure permeabel verhält.

Betreffs der Permeabilität der Blutzellenmembran gegen Milchsäure gibt es nur eine einzige Arbeit von Gryns (1896). Er arbeitete nach seiner eigenen Methode und fand, dass Blutzellen sich gegen milchsaures Ammon impermeabel erwiesen.

Anderseits zeigten Masing (1912), Kozawa (1914) und Ege (1920–21), dass die Blutkörperchen von der Gans, vom Schwein, Hammel, Rind, Pferd, von der Katze, von Kaninchen, Meerschweinchen, wahrscheinlich auch vom Hund für den dem Blut zugesetzten Traubenzucker undurchlässig oder mindestens sehr schwer durchlässig sind, während die Blutkörperchen des Menschen (nach Kozawa auch die des Affen) eine Sonderstellung einnehmen und Hexose, Pentose und Glukosamin einlassen. Ausserdem fand Kozawa eine Schwellung der Blutkörperchen von Menschen und Affen und bei Diabetikern in den isotonischen Lösungen der oben genannten Zuckerarten. Die Blutkörperchen anderer Laboratoriumstiere behielten in denselben Lösungen ihr ursprüngliches Volumen bei.

Kotake und Okagawa (1922) bestätigten, dass die *l*-Oxyphenylmilchsäure leicht in die Erythrocyten der Kaninchen eindringt, während diese für die *dl*- und *d*-Form derselben nur sehr wenig oder garnicht permeabel sind. Hiernach haben sie behauptet, dass die optischen Eigenschaften der Substanzen für die Durchlässigkeit der roten Blutzellen eine grosse Rolle spielen.

Ich beschäftigte mich nun damit, festzustellen, 1. ob die Blutzellen *in vivo et vitro* permeabel gegen Milchsäure sind; 2. ob die Artspezifizität der Permeabilität auch gegen Milchsäure bestehe und 3. ob irgendeine Differenz betreffs der Permeabilität der Blutzellen gegen die beiden optischen Antipoden der Milchsäure sich zeige.

II. METHODISCHES UND ERGEBNISSE.

A. Sind die Blutzellen in vivo gegen die im Körper gebildete Milchsäure permeabel?

Beim Menschen und beim Kaninchen wurde die Verteilung der Milchsäure im Blute beim Ruhezustand und unmittelbar nach der Muskelbewegung untersucht, indem ich sofort nach der Blutentnahme für die Versuche über den Ruhezustand kurze aber heftige Muskelbewegung leisten liess. Hierbei erhielt ich die Resultate, welche in Tabelle I angegeben sind.

TABELLE I.

		Milchsäure (mg/dl) in			Serum
		defib. Blut	Körperchen	Serum	Körperchen
Mensch	I (A) ↓ (B)	9.0	8	9.3	1.2
		39.1	22	47.7	2.2
	II (A) ↓ (B)	11.4	10	12.3	1.2
		34.7	19	43.2	2.3
Kaninchen	I (A') ↓ (B')	9.1	4	12.4	2.8
		45.7	18	62.3	3.5
	II (A') ↓ (B')	9.8	7	11.4	1.3
		38.6	17	49.5	2.9
	III (A') ↓ (B')	8.1	5	10.3	2.2
		80.9	27	104	3.8

(A): Bei Ruhe; (B) Unmittelbar nach Muskelleistung.

(A'): Bei Ruhe durch Narkose; (B') Unmittelbar nach Muskelbewegung.

Nach diesen Ergebnissen vermehrt sich in kurzer Zeit auffallend die Milchsäure in den Blutzellen während des Ansteigens des Milchsäurespiegels des Vollblutes und des Serums.

Auch aus der Tab. IV der I. Mitteilung ersieht man, dass der

Milchsäuregehalt der Blutkörperchen der verschiedenen Tiere innig mit dem des Serums verknüpft ist. Obwohl Milchsäure in geringer Menge in den Blutzellen gebildet oder zerstört worden sein soll (Abraham 1926, Doyon und Morel 1903, Edlman 1912), könnte man eine so gebildete Menge doch im Vergleich zu dem reichlichen Gehalt der Blutzellen und des Plasmas an Milchsäure vernachlässigen. Deswegen kann man wohl annehmen, dass die in kurzer Zeit nach der Bewegung vermehrte Milchsäure in den Körperchen fast ausschliesslich durch Eindringen von Plasma in die Körperchen entsteht.

Ich möchte deshalb behaupten, dass die Blutzellen des Menschen, Hundes, Kaninchens, der Taube und des Frosches in vivo gegen die im Blutserum vorhandene Milchsäure durchlässig sind.

B. Sind die ausgewaschenen Blutkörperchen gegen die in vitro zugesetzte Gärungsmilchsäure durchlässig?

Um die Individualität der Blutkörperchen auszuschalten, habe ich das Blut mehreren Individuen entnommen. Die Gerinnung wurde durch Zusatz von Novirudin unterdrückt, und das Blut mit dem isotonischen Phosphatgemisch (Ph 7,7) mehrmals gut ausgewaschen. Ich achtete bei der Zentrifugierung auf die Tourenzahl und Dauer so, dass ich in jedem Fall eine annähernd konstante Hämatokritenzahl der Blutkörperchenemulsion bekommen konnte. Diese Emulsion wurde in mehrere kleine Zentrifugengläser verteilt. Eins davon benutzte ich zum Kontrollversuch und die anderen zu den eigentlichen Versuchen. Bei den letztgenannten Versuchen zentrifugierte ich sie wieder, und nahm dann eine bestimmte Menge der supernatanten Flüssigkeit mit der Pipette heraus, wofür ich eine gleiche Menge von isotonischer Milchsäurelösung zusetzte und gut mengte. Die zugesetzte Menge der Milchsäurelösung in jedem Gläschen wurde stufenweise geändert. Das Gemenge wurde dann 40 Minuten lang in den Thermostat von 38°C eingetaucht, wo das Eindringen der Milchsäure in die Körperchen rasch stattfinden

konnte. Die zugesetzte Milchsäurelösung wurde aus Gärungsmilchsäure (Kahlbaum) und NaOH-Lösung so zusammengestellt, dass die H-Ionenkonzentration 7,7 und ihre Gefrierpunktniedrigung $-0,56^{\circ}\text{C}$ betrug. Dann bestimmte ich sorgfältig den

TABELLE II.

Verteilung der zugesetzten Gärungsmilchsäure in der Blutkörperchenemulsion.

Tierart	Milchsäure (mg/dl) der			Medium
	Emulsion	Körperchen	Medium	Körperchen
Mensch	25,0	18	29,5	1,6
	29,8	20	36,6	1,8
	56,3	39	68,0	1,7
	68,8	55	78,4	1,4
	83,2	59	98,7	1,7
	124	80	155	1,9
	143	95	175	1,8
	256	189	308	1,6
	256	183	309	1,6
	334	232	402	1,7
	455	310	567	1,8
	538	386	660	1,7
			Durchschnitt	1,7
Hund	31,3	24	37,3	1,5
	40,6	28	48,2	1,7
	48,4	36	60,3	1,7
	58,8	40	66,8	1,7
	80,5	58	97,3	1,7
	94,5	65	106	1,6
	106	86	118	1,4
	194	133	234	1,8
	285	226	325	1,4
	379	267	281	1,4
	380	257	470	1,8
	510	385	608	1,6
			Durchschnitt	1,6

Kaninchen	14,6	12	16,2	1,4
	30,4	26	33,9	1,3
	49,5	57	62,0	1,1
	73,3	63	82,8	1,3
	113	103	136	1,3
	158	127	178	1,4
	228	199	248	1,2
	250	229	274	1,2
	256	186	294	1,6
	288	231	329	1,4
	288	342	438	1,3
	520	421	650	1,5
			Durchschnitt	1,3
Taube	35,8	25	4,1	1,8
	55,0	40	6,9	1,6
	58,1	41	7,5	1,7
	104	79	123	1,6
	216	187	256	1,4
	253	181	309	1,7
	359	269	440	1,6
	428	346	490	1,4
	557	418	693	1,7
	596	428	734	1,7
			Durchschnitt	1,6
Frosch	10,4	8	14,6	1,8
	18,5	15	22,1	1,5
	38,1	26	51,4	1,0
	51,2	40	59,1	1,5
	52,9	36	70,2	1,9
	101	70	136	1,9
	202	151	240	1,6
	253	191	324	1,7
	328	205	423	2,0
	376	388	482	1,7
			Durchschnitt	1,8

Milchsäuregehalt der supernatanten Flüssigkeit und der Körperchen, wie ihn die Tabelle (II) zeigt.

Während der Versuche muss man natürlich eine neue Entwicklung der Milchsäure infolge der Glykolyse berücksichtigen, obgleich sie sehr geringfügig ist. Tatsächlich waren aber die gefundenen Werte der Milchsäure während der kurzen Versuchsdauer fast ebenso wie die der Anfangszeit. Infolgedessen kann man die aufgefundenen Zahlen als die der zugesetzten Milchsäure betrachten. Wie man aus der Tabelle erkennen kann, enthalten die Blutkörperchen aller Versuchstiere Milchsäure. Also ist die zugesetzte Milchsäure imstande leicht in die Blutkörperchen einzudringen. Daneben sieht man auch, dass der Milchsäuregehalt des Mediums in jedem Fall viel höher ist als der der Körperchen, und dass die in die Blutkörperchen eingedrungene Milchsäuremenge dem Gehalt des Mediums direkt proportional ist.

C. Kann man irgendeinen Unterschied in der Permeabilität der Blutkörperchen gegen die beiden optischen Antipoden der Milchsäure wahrnehmen?

Die rechts- und linksdrehende Milchsäure wurde nach Irvine-scher Methode (1906) gewonnen. Die so gewonnenen Milchsäuren wurden jedesmal in Phosphatgemisch gelöst, wobei die H-Ionenkonzentration an 7,7 und die Gefrierpunktniedrigung auf $-0,56^{\circ}\text{C}$, ganz wie oben, eingestellt wurde. Das Entnehmen und Auswaschen sowie das Zentrifugieren des Blutes geschah ebenfalls ganz wie bei den obigen Versuchen. Der Erythrocytenbrei wurde auf 3 kleine Zentrifugengläser in gleicher Menge verteilt. Das 1. davon diente zum Kontrollversuch, das 2. zum Zusatz der *l*-Milchsäure und das 3. zum Zusatz der *d*-Milchsäure. Der Inhalt der Gläschen wurde gut gemischt und 20 bis 30 Minuten lang in Zimmertemperatur stehen gelassen. Darauf bestimmte ich die Verteilung der Milchsäuren im Medium und in den Körperchen nach gewöhnlicher Methode.

Die Ergebnisse sind in Tabelle (III) zusammengestellt:

TABELLE III.

Tierarten		Nr. I		Nr. II	
		<i>l</i> -Milchsäure	<i>d</i> -Milchsäure	<i>l</i> -Milchsäure	<i>d</i> -Milchsäure
Mensch	Emulsion	23,4	21,1	89,3	90,2
	Körperchen	7	17	52	67
	Medium	19,3	24,7	110	104
	Medium				
	Körperchen	2,8	1,4	2,1	1,6
Hund	Emulsion	35,3	34,1	89,1	91,6
	Körperchen	16	28	57	79
	Medium	42,1	37,3	109	99,4
	Medium				
	Körperchen	2,6	1,4	1,9	1,3
Kaninchen	Emulsion	20,1	27,1	88,1	89,7
	Körperchen	10	20	62	92
	Medium	28,3	31,7	106	94,9
	Medium				
	Körperchen	2,8	1,6	1,7	1,0
Taube	Emulsion	31,8	32,4	89,1	88,2
	Körperchen	23	30	57	74
	Medium	40,4	46,2	107	95,9
	Medium				
	Körperchen	1,8	1,5	1,9	1,3
Frosch	Emulsion	36,3	36,0	90,7	90,2
	Körperchen	25	32	61	78
	Medium	40,0	37,2	114	109
	Medium				
	Körperchen	1,6	1,2	1,9	1,4

In jedem Fall wurden die Milchsäurewerte des Kontrollversuches von den eigentlichen mit *d*- oder *l*-Milchsäurezusatz abgezogen. Wie bereits mehrfach erwähnt, kommt es nicht in Frage, ob Milchsäureveränderung unter meinen Versuchsbedingungen entsteht oder nicht. In der Tat fand ich eine ganz gleiche Milchsäuremenge wie die anfangs zugesetzte.

Aus den Ergebnissen der Tab. III ersieht man, dass die Blutkörperchen von verschiedenen Tierarten eine gewisse Menge Milchsäure sowohl beim Zusatz von *d*- als auch *l*-Milchsäure enthalten. Mit anderen Worten, es kann sowohl *d*- als auch *l*-Milchsäure in die Blutkörperchen eindringen.

Bei diesen Versuchen fiel die Milchsäuremenge in den Blutkörperchen beim Zusatz von *l*-Milchsäure etwas geringer aus als die beim Zusatz von *d*-Milchsäure. Infolgedessen zeigt sich der Verteilungskoeffizient (Medium: Körperchen) der *l*-Säure immer grösser als der der *d*-Säure. Dies scheint mir dadurch möglich zu sein, dass beide Milchsäuren optisch verschieden sind.

III. ZUSAMMENFASSUNG.

1. Die Blutkörperchen von Menschen, Hunden, Kaninchen, Tauben und Fröschen sind *in vivo* gegen die im Serum vorhandene Milchsäure durchlässig.

2. Die im Phosphatgemisch (Ph 7,7; $\Delta -0,56^{\circ}\text{C}$) suspendierten Blutkörperchen von Menschen, Hunden, Kaninchen, Tauben und Fröschen sind gegen die zugesetzte Gärungsmilchsäure durchlässig; und der Milchsäuregehalt des Mediums ist immer grösser als der der Körperchen. Und zwar ist die Zunahme der Milchsäuremenge in den Blutkörperchen direkt proportional der im Mediums.

3. Die physiologisch vorhandene *d*-Milchsäure ist fähig, leichter als *l*-Milchsäure in die im Phosphatgemisch (Ph 7,7; $\Delta -0,56^{\circ}\text{C}$) suspendierten Blutkörperchen von Menschen, Hunden, Kaninchen, Tauben und Fröschen einzudringen.

Auch hier spreche ich Herrn Prof. Dr. S. Kozawa, Herrn Dr. K. Fukushima und Herrn Dr. R. Iwatsuru meinen aufrich-

tigsten Dank für ihre Anleitung und Ratschläge aus.

LITERATUR.

- Araki (1891-94): Zeitschr. f. physiol. Chem., 15, 16, 17, 19.
Barnett & Kenny (1926): Pro. Soc. exp. Biol. and Med., 23.
Barr, Himwich & Green (1923): Jn. Biol. Chem., 55.
Collander (1926): Soc. Sci. Fenica Comm. Biol. 2, Nr. 6, zit. nach Gelhorn.
Crozier (1916): Biol. Che., 24; (1918): 33; (1919-22): Jn. of gen. Physiol., 1-4.
Donath (1907): Berl. klin. Wochenschr., 44.
Doesschate (1907): Zeitschr. f. physiol. Chem., 54.
Ege (1920-21): Bioch. Zeitschr. 111-114.
Fürth & Lockmann (1906): Centralbl. f. Gynäkol., Nr. 2.
Gottheiner (1897): Zeitschr. f. klin. Med., 33.
Gelhorn (1929): Permeabilitätsproblem, Berlin.
Gryns (1896): Pfügers Arch., 63.
Hill, Long & Lupton (1924): Proc. of the Roy Soc., 96.
Harvey (1915): Z. physikal. chem. Biol. 1; zit. nach Gelhorn.
Inouye & Saiki (1902): Zeitschr. f. physiol. Chem., 37.
Irvine (1906): Jn. of chem. Soc. Transact., 1.
Jakubasch (1868): Virch. Arch., 43.
Jansen & Jost (1925): Zeitschr. f. physiol. Chem., 148.
Kotake & Okagawa (1922): Jn. of Biochem., 1.
Kozawa (1914): Biochem. Zeitschr., 60; (1919): Jn. of Physiol., 53.
Masing (1912): Pfügers Arch., 149.
Meyer (1881-83): Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., 14, 17.
Meyerhof (1925): Klin. Wochenschr., Nr. 8.
„ (1925): Biochem. Zeitschr., 157.
Mirishima (1900): Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., 43.
Philippson (1920): IX. Internat. Physiologenkongress Groningen, zit. nach Gelhorn.
Saito & Katsuyama (1901): Zeitschr. f. physiol. Chem., 32.
Scheller (1926): Münch. med. Wochenschr., Nr. 40, 45.
Schultzen & Riess (1864): Charité Annal., 15.
Wittgenstein & Gaederz (1926-27): Biochem. Zeitschr., 176, 187.
Zweifel (1909): Münch. med. Wochenschr., 53.

